

Aus der Chirurgischen Universitäts-Klinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. M. Schwaiger

**Knochenmarksfunktionsprüfung
nach Gaben der neuen Cytostatika
aus der Podophyllinreihe
SP-I und SP-G Sandoz**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Jörn Ritter

aus Mainz/Rhein

Marburg 1966

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg



Aus der Chirurgischen Universitäts-Klinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. M. Schwaiger

**Knochenmarksfunktionsprüfung
nach Gaben der neuen Cytostatika
aus der Podophyllinreihe
SP-I und SP-G Sandoz**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Jörn Ritter

aus Mainz/Rhein

Marburg 1966



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 7.7.1966

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. O. Braun-Falco

Referent: Prof. Dr. H. J. Streicher

Correferent: Prof. Dr. M. Schwaiger

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
I. EINLEITUNG	1
1. Einteilung der Cytostatika	1
2. Antimitotika - Unterbrechung der Mitose	2
3. Wirkstoffe des Podophyllins	3
a) Historische Entwicklung	3
b) Pharmakologie	4
c) Klinische Erfahrungen	5
4. Metabolismus und Nebenwirkungen der Cytostatika	8
a) Alkylierende Substanzen - Störung des Nukleinsäurestoffwechsels	8
b) Antimetabolite - Folsäure und Purin- antagonisten	11
c) Bedeutung der Hexokinase-Reaktion	12
d) Verdrängung der Hexokinase	13
II. EIGENE VERSUCHE	15
A Fragestellung	15
B Methodik	15
C Versuchsbeschreibung	17
D Diskussion	49
III. ZUSAMMENFASSUNG	69
IV. LITERATURVERZEICHNIS	71



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einteilung der Cytostatika

Die Chirurgie und die Strahlentherapie stellen nach wie vor die klassischen Methoden der Krebsbekämpfung dar, aber auch mit den radikalsten Eingriffen und mit den präziseaten Röntgenapparaten sind über die bisherigen Erfolge hinaus von dieser Seite in Zukunft keine weiteren Fortschritte zu erwarten. Das Problem konzentriert sich zunehmend auf die zwei Fragen, die Frühdiagnose und die Bekämpfung der Metastasen. Schon frühzeitig gilt das Karzinom nicht mehr als ein lokaler Prozeß, sondern es handelt sich bald, um mit YOSHIDA⁹⁸ zu sprechen, "um eine generalisierte Erkrankung des gesamten Organismus". Der Gedanke lag nahe, mit chemischen Substanzen aus der Reihe der Zellgifte diese versprengten Tumorzellen anzugreifen. Trotz mancher Erfolge auf diesem Gebiet durften unerwünschte Nebenwirkungen auf das Knochenmark nicht außer acht gelassen werden.

In meiner Arbeit versuche ich herauszufinden, wie das Cytostatikum SP-I und SP-G von Sandoz auf die Leukopoese der Ratte wirkt.

Die Erfolge der Antibiotika ermutigten den Versuch, mit Chemikalien das Tumorstwachstum zu beeinflussen. Das Ziel dieser Therapie ist, nur entartete Gewebe zu zerstören, um so, vermittels der Blutbahn, über den rein lokalen Angriff der chirurgischen oder röntgenologischen Behandlung hinaus, alle Krebszellen im Organismus zu vernichten. Die Schwierigkeit liegt aber in deren geringen morphologischen und funktionellen Unterschieden. Denn es handelt sich bei ihnen, wie BAUER² sagt, "um aus der Art geschlagene Geschwister des Organismus". WARBURG⁸³ fand zwar in den zwanziger Jahren eine verstärkte Gärung bei allen bisher bekannten Neoplasmen. Da diese Glykolyse auch bei reichlicher Sauerstoffversorgung abläuft, spricht er von der aeroben Glykolyse der Tumoren. Seine Entdeckung blieb aber

lange Zeit ungenutzt, denn der Sitz dieser enzymatischen Störung war nicht bekannt, und eine kausale Therapie erübrigte sich. Auf dem Weg der Empirie hoffte man Substanzen zu finden, die das Wachstum von tierischen Zellen hemmten. In Anlehnung an den Begriff Bakteriostase nannte L. HEILMEYER³⁵ diese Präparate Cytostatika und versuchte sie ihrem Wirkungsmechanismus entsprechend in verschiedene Gruppen einzuteilen. Für DOMAGK¹⁷ sind die unterschiedlichen Angriffspunkte im Krebsgewebe mehr von der Konzentration der Medikamente abhängig als von deren spezifischen Wirkung. Trotzdem behielt man die Einteilung aus Gründen der Zweckmäßigkeit bei. Auch hier sollen unter diesem Vorbehalt die drei Hauptgruppen erwähnt werden:

1. Angriff am Zellstoffwechsel - Antimetabolite
2. Unspezifische Zellschädigung - alkylierende Substanzen
3. Unterbrechung der Zellteilung - Antimitotika

2. Antimitotika - Unterbrechung der Mitose

Die Mitosegifte greifen spezifisch in die Zellteilung ein. Unter ihrem Einfluß kommt es zu einem Chromosomenzerfall und zu deren Zerstreuung in der Zelle. Die chromosomale Einordnung in die Äquatorialebene ist gestört. Eine Spindelstruktur kann sich nicht ausbilden. So bleibt der Teilungsvorgang auf der frühen Metaphase stehen.

Die Hauptvertreter dieser Substanzen sind pflanzliche Produkte. Hierher gehören die Gifte der Herbstzeitlose, die Colchizine, die Extrakte aus der Wurzel des amerikanischen Podophyllum peltatum Linn. und des indischen Podophyllum emodi Wall. und schließlich das Alkaloid aus der Vinca rosea Linn., das Vincaläuboblastine. Zu diesen Chemikalien zählen auch die meisten Autoren das Narkotikum Urethan.

Die antimitotische Wirkung des Colchizins kann wegen der erheblichen Allgemeintoxizität nicht genügend therapeutisch genutzt werden. Das von SANTAVY und REICHSTEIN⁷⁰ isolierte Desacetyl-methyl-colchizin hat bei gleicher antimitotischer Aktivität eine wesentlich geringere zytotoxische Nebenwirkung. Verwendung findet es mit gutem Erfolg bei der Behandlung der chronischen myeloischen Leukämien.

In Amerika war eine Zeitlang das Vincaleukoblastine recht verbreitet. Mit ihm ließen sich nicht nur die sog. "flüssigen Geschwülste", sondern auch solide Neoplasmen wie z.B. Rectum-Sigmoid-Karzinom (HODES³⁸ und Mitarbeiter) oder Chorioepitheliome (HERZT³⁴) gut beeinflussen. Auch hier sind die spezifisch antimitotischen Erfolge durch die Wirkung auf den allgemeinen Metabolismus eingeschränkt. Besonders betroffen werden die Leuko- und Erythropoese (WARWICK⁸⁸, CUTTS¹² und Mitarbeiter, JOHNSON⁵¹). Trotzdem besitzt Vincaleukoblastine weniger starke toxische Nebenwirkungen als Colchizin.

Zu den antimitotischen Cytostatika wird auch der Carbaminsäureäthylester Urethan gezählt. (SCHULZE⁷³ und Mitarbeiter, KUSCHINSKY⁵⁸). Als Mitosegift ist es dem Colchizin unterlegen und wirkt vorwiegend auf die leukämisch entarteten Zellen. Schon L.HEILMEYER³⁵ hatte den Verdacht, daß es weiterhin noch auf das Fermentsystem wirkt. Er glaubte, eine irreversible Schädigung der Dehydrogenasen erkennen zu können. Somit erklären sich die Befunde von MASSHOFF⁶² und Mitarbeitern, die über eine Mitosehemmung hinaus den Einfluß des Urethans auf alle tätigen Systeme unterstreichen. In der Klinik sind als Nebenwirkungen besonders die Agranulocytose und Bronchopneumonien gesehen worden. SCHULZE⁷³, HEILMEYER³⁵ und GOLDECK²⁸ beschreiben auch depressive Einwirkungen auf das erythropoetische System.

Zu dieser Gruppe gehört noch das Mitosegift Podophyllin. Hierüber soll im nächsten Abschnitt Näheres gesagt werden.

3. Wirkstoffe des Podophyllins

a) Historische Entwicklung

Man kennt zwei wichtige Vertreter der Podophyllinarten, die beide zur Familie der Berberidaceen gehören. Die eine Pflanze das Podophyllum peltatum Linn. wächst in Nordamerika, die andere, das Podophyllum emodi Wall., ist in Indien verbreitet. Ihre Extrakte, das Podophyllin, benutzte die Volksmedizin schon lange als Drastikum und Anthelmintikum (SCHÖFF⁷⁴). BARTON³ berichtete schon im Jahre 1798 über die Behandlung der "Syphilis" mit Podophyllin bei den Indianern.

Im 19. Jahrhundert verbreitete es sich auch in England und auf dem Kontinent zur Therapie von Neuralgien und des Rheumatismus. 1942 erzielte KAPLAN⁵² Erfolge mit Podophyllin bei der Behandlung von condylomata acuminata. Später verwendete LARSSON⁵⁹ es bei der Heilung oberflächlicher Basalzellentumoren.

Aus den getrockneten Rhizomen der beiden Pflanzen isolierte PODWYSSOTZKI⁶⁶ das Podophyllin. HARTWELL³¹ gewann aus dem Podophyllum peltatum noch zusätzlich Alpha- und Beta-Peltatin und NADKARNI⁶⁵ und HARTWELL aus dem indischen Podophyllin das 4'-Demethyl-podophyllotoxin. Diese Substanzen erwiesen sich als die pharmakologisch wirksamen Extrakte aus dem harzhaltigen Podophyllin. Ihre biologische Aktivität richtet sich gegen die Mitosen, sie sind also Mitosegifte (SULLIVAN⁷⁹, KING⁵⁵, ISLER⁵⁰). Sie greifen die Chromosomen in der frühen Metaphase an. Es fehlt die äquatorielle Einordnung, und der Spindelmechanismus ist gestört. Kurz, man sieht typische "Podophyllin-Zellen" mit den genannten Veränderungen im Zellkern, weiter eine schwammige Auftreibung des Protoplasmas und das Zurückwandern des Cytoplasmas von der Zellmembran.

b) Pharmakologie

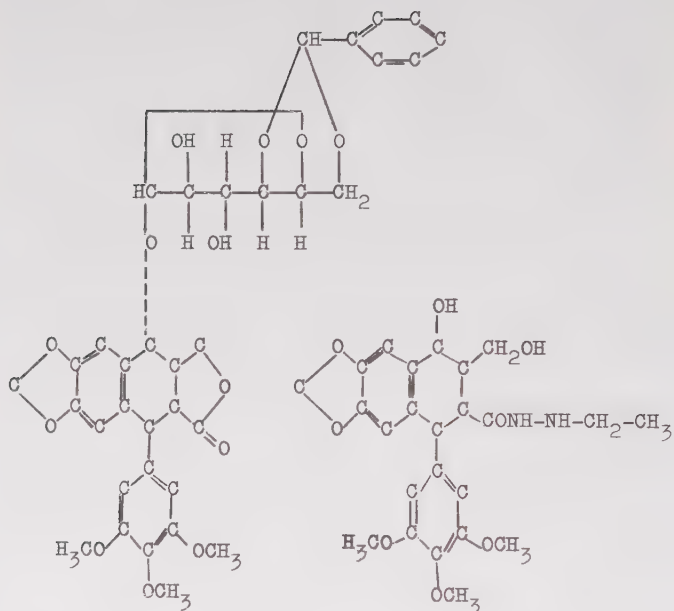
Durch die schwache Wasserlöslichkeit des Podophyllins war aber die therapeutische Breite recht gering. Lokal angewandt, führte die epidermale Resorption oft zu starken Intoxikationen und bisweilen zu Todesfällen. Erst die Isolierung von wasserlöslichen glykosidischen Verbindungen aus den Rhizomen durch STOLL⁷² und Mitarbeitern gewannen diese Chemikalien wieder Bedeutung in der Therapie. Es handelte sich um die β -D-Glukoside der obengenannten lipophilen Derivate aus dem Podophyllin, im wesentlichen um Podophyllo-toxin- β -D-Glukosid und um 4'-Demethyl-podophyllotoxin- β -D-Glukosid.

EMMENEGGER, STÄHLIN²⁴ und Mitarbeiter aus dem pharmakologischen Laboratorium der Sandoz-Werke konnten überzeugend eine verringerte Mitosehemmung der Glukoside demonstrieren. Durch die Verknüpfung der Podophyllinderivate mit einem

Zuckermolekül vermindert sich aber außerdem die Toxizität um das 6 bis 7 fache. In Konzentrationen, die zum Mitosestop führen, ist jedoch auch eine unspezifische zytotoxische Wirkung auf die Ruhekerne zu verzeichnen. Das unterschiedliche Verhalten zwischen dem Glukosid und dem Aglukon wird durch die veränderten physikalisch-chemischen Eigenschaften verständlich. Denn die gut wasserlöslichen Glukoside haften schwächer in den lipoiden Zellen als die lipophileren Aglukone. Bei einer peroralen Applikation werden aber die β -Glukoside sehr leicht durch die β -Glukosidase hydrolytisch in die aktiveren Aglukone und in β -Glukose gespalten. Der Gefahr des fermentativen Zerfalls der Glukoside versuchte man, durch die Blockierung der OH-Gruppen am Zuckermolekül zu begegnen. Die veresterten Akylderivate zeigten aber einen erheblichen antimitotischen Wirkungsverlust. Daraufhin kondensierten RENZ⁶⁸ und VON WARTBURG⁸⁷ Benzaldehyd mit den Glukosiden. Diese Benzytidenverbindungen weisen sich durch die gleichen antimitotischen Potenzen aus wie die einfachen Zuckermoleküle. Durch besondere Aktivität trat das 4'-Demethyl-podophyllotoxin- β -D-benzytidenglukosid hervor. Auffallend war aber die geringe Toxizität dieser Substanzen. Das Cytostatikum SP-G Sandoz besteht so aus den Benzytidenverbindungen der Podophyllum-emodi-Glukoside. Die Hauptkomponente ist das Benzytiden aus dem Podophyllotoxin-Glukosid. Aus galenischen Gründen ging man bei der Herstellung von SP-I vom Podophyllotoxin aus. Der Laktoneering wurde durch Hydrazin zum Podophyllinsäurehydrazid gespalten. Abschließend kondensierte man die Hydrazidgruppe mit einer Carbonylverbindung. Durch diese hydrolytische Spaltung des Laktoneerings ist die spezifische, antimitotische Wirkung des Podophyllotoxins nicht verloren gegangen. Die Formeln dieser beiden Präparate sind unten (S.6) aufgezeichnet.

c) Klinische Erfahrung

Die neuen Cytostatika von Sandoz, SP-I und SP-G, bestehen also aus leicht abgeänderten Glukosidderivaten des Podophyllins. Aus dem bisher Gesagten ergibt sich für sie eine weitgehende selektive antimitotische Reaktion auf die Tumorzellen. In beschränktem Maße greifen sie auch unspezifisch



Podophyllotoxin-β-
D-benzyliden-glukosid

Hauptkomponente SP-G

Podophyllinsäure-
äthylhydrazid

Wirkstoff von SP-I

Ruhekerne an. Trotz einiger Begleiterscheinungen zeichnen sie sich durch eine beachtliche therapeutische Breite aus. Diese Podophyllinderivate gehen nach EMMENEGGER²⁴ und Mitarbeitern keine Reaktion mit dem lymphatischen System ein. Besonders gering ist aber die Wirkung auf das myeloische Gewebe des Knochenmarkes. Daher spielen auch diese Substanzen in der Behandlung der Leukämien keine Rolle. Nach den Mitteilungen von STAMM⁷⁵, EMMENEGGER²⁵ und WEDER⁸⁹ zeigen diese Chemikalien bei der Therapie solider Tumoren, namentlich Chorionepitheliomen und bei Plattenepithelkarzinomen des Nasen-Rachenraumes auffallend gute Erfolge ohne Schädigungen des hämopoetischen Apparates. STAMM⁷⁵ konnte trotz monatelanger Applikation dieser Cytostatika keinen Leukocytensturz nachweisen. Außerdem sah er nie eine Agranulocytose oder eine pathologische Verschiebung im weißen Blutbild. HUBACHER^{46,47}, und DEUCHER¹⁵ verweisen auf die geeignete Kombination von SP-I und SP-G mit der Strahlentherapie. Dabei konnten sie keine bedrohlichen Komplikationen von seiten des Knochenmarks feststellen. Bei Gaben des Präparates allein beobachtete HUBACHER die besten Resultate bei Tumoren im oberen Verdauungstrakt und bei kleinen Lungenmetastasen des Mammakarzinoms. DEUCHER hofft, mit diesem Medikament vor allem die Gefahr der Tumoraussaat während Operationen und Probeexzisionen bannen zu können. Er berichtet über beachtliche Erfolge dieser Art bei bisher ungünstigen Fällen. So demonstriert er einen rezidivfreien Verlauf von bisher einem Jahr nach einer operativen Therapie eines besonders malignen osteogenen Sarkoms unter Schutz der genannten Cytostatika.

Aber es fehlt auch nicht an warnenden Stimmen. Vor allem sollen diese neuen Präparate nie unkontrolliert verwandt werden. Denn in ihrer Anwendung sind auch diese Substanzen in entsprechenden Dosen nicht ohne Gefahren. Als unangenehme Begleiterscheinungen treten bei einigen Fällen Erbrechen, Nausea und bei SP-G vorwiegend auch bisweilen starke Diarrhöen auf. MOESCHLIN⁶³ kann außerdem über tödliche Agranulocytosen berichten, verursacht durch unkritisches Verordnen dieser Cytostatika als Erhaltungsdosis.

Zusammengefaßt ergibt sich für die Krebstherapie, daß die Anwendung der Cytostatika durch die mehr oder weniger toxischen Begleiterscheinungen beschränkt wird. Gerade die wirksamsten kanzerotoxischen Substanzen greifen nicht nur selektiv entartete Gewebe an, sondern sie wirken auch in verschiedenem Ausmaß auf die Hämoopoese. Besonders gefährdet ist die Reifung der Granulocyten. Eine Ausnahme scheint hierin das Podophyllinderivat SP-I bzw. SP-G von Sandoz zu machen. Diese neuen Antimitotika dienen vorwiegend der Behandlung von Metastasen solider Tumoren. Auf die Leukopoese sollen sie aber nur geringen Einfluß ausüben.

Aus den differenten Angriffspunkten der Chemikalien im Metabolismus soll nun anschließend versucht werden, die quantitativen Unterschiede der Nebenwirkungen zu erklären.

4. Metabolismus und Nebenwirkungen der Cytostatika

a) Alkylierende Substanzen

- Störung des Nukleinsäurestoffwechsels

Alkylierende Substanzen nennt man Chemikalien aus der Reihe der Äthylenimine und weiterhin die Halogenalkyl- und Halogenarylderivate des Stickstoffsengases, N-Lost genannt. Sie zeichnen sich durch besondere zytostatische Aktivität aus. Daher kommt ihnen Nebenwirkungen auch eine große Bedeutung zu. Trotz vieler Veröffentlichungen kann bisher über den letzten zytotoxischen Angriff keine präzise Angabe gemacht werden. Allgemein werden die leicht reagierenden alkylierenden Radikale als deren therapeutisch wirksame Gruppe angesehen. WARBURGs Idee, daß eine Tumorzelle, ihrer aeroben Glykolyse beraubt, keine Tumorzelle mehr sei, lenkte das Interesse an der kanzerostatischen Wirkung auf den Kohlenhydratstoffwechsel. HOLZER und KRÖGER⁴⁵ sahen zunächst den enzymatischen Angriff der Alkylantien in deren Reaktion mit der SH-Gruppe der Triosephosphatdehydrogenase. Es schien mit dieser Entdeckung der Einfluß dieser Chemikalien auf die aerobe Glykolyse geklärt zu sein. Aber nur bei hohen Konzentrationen der Medikamente war diese alkylierende Wirkung mit dem Enzym nachzuweisen. So beschrieb ROITT⁶⁹ bei therapeutischen Dosen den rapiden Abfall des Diphosphornukleotids DPN

im Tumorgewebe. Dieser Befund konnte von HOLZER^{43,44,45}, GERLICH²⁷, BROCK⁴ und SCHMIDT⁷² bestätigt werden. Sie sahen durch die Beeinflussung des DPN-Gehaltes eine entsprechende Abnahme der aeroben Glykolyse. Diese blockierende Wirkung wurde durch Zufuhr von Nikotinsäureamid wieder aufgehoben (SCHMIDT⁷²). Auffällig ist aber die Feststellung, daß die DPN-Konzentration erst nach drei bis sechs Tagen im Gewebe sinkt, während schon wenige Stunden nach der Injektion im Tumor zytologische und morphologische Veränderungen gesehen werden (SCHMÄHL⁷¹). In einer umfassenden Arbeit konnten GRUNDMANN³⁰ und Mitarbeiter den Beweis für diese Vermutung bringen. Der DPN-Senkung muß also ein anderer metabolischer Schritt in der Zelle vorausgehen. Sie beschrieben weiter einen vermehrten RNS-Gehalt im Zellkern. Allgemein meinten sie, unter der Therapie eine Zunahme der Proteine im Cytoplasma als auch im Zellkern zu erkennen. DOMAGK (bei FÜTTER, J.⁶⁷: Verh. dtsch. Ges. Path. (1958)) vertritt die Auffassung, daß durch einen veränderten RNS-Stoffwechsel die Synthese der Enzyme und Coenzyme gestört wird. Mit diesem Angriff der Alkylantien deutet er die Senkung der DPN-Konzentration und damit die gehemmte Glykolyse. Wenn auch dieser Mechanismus von anderen Autoren verneint wird, so bleibt doch die Wirkung alkylrierender Stoffe auf den Nukleinstoffwechsel außer Zweifel. So konnten BROOKES und LAWLEY⁶ erneut die kanzerotoxische Wirkung auf eine Reaktion mit Guaninmolekülen der RNS zurückführen. Bei der ganzen Fülle der Erfahrungen kann heute nur sicher gesagt werden, daß der Nukleinsäurestoffwechsel im Brennpunkt des zytotoxischen Angriffs steht. Bei der zentralen Rolle der RNS im Aufbau von Proteinen, von Fermenten und Cofermenten versteht man den Ausfall im Metabolismus durch ihre Zerstörung. Somit ist der Begriff unspezifische Wachstumshemmer für die alkylierenden Substanzen begründet. Hieraus erklären sich aber auch die erheblichen Nebenwirkungen, die vorwiegend bei den schnell proliferierenden Geweben ausgeprägt sind. Nicht nur Agranulocytosen und Thrombopenien zwingen bisweilen zur Therapieunterbrechung, sondern auch von seiten des Magen- und Darmtraktes sind Störungen wie Diarrhoe oft klinisch bedeutungsvoll. Bei einer ausreichenden zytostatischen Be-

handlung bewegt man sich mit der Dosierung oft in einem Bereich, in dem man mit toxischen Begleiterscheinungen rechnen muß, besonders mit Schädigungen des Knochenmarks. Eine tägliche Leukocytenkontrolle aus dem peripheren Blut besagt nicht viel über die Funktionskraft des hämopoetischen Systems. Hierbei bietet sich die Knochenmarksfunktionsprüfung nach Moeschlin an. Er verabreichte Probanden den abgetöteten Bakterienstoff Pyripher und bestimmte die Leukocyten im peripheren Blut in der 2. 4. 6. und 8. Stunde. Bei gesunden Individuen sah er eine charakteristische Leukocytenbewegung im peripheren Blutbild mit einem Maximum in der vierten Stunde und einen raschen Abfall in den folgenden Stunden. ZACH und GEBERT⁹⁹ benutzten diese Methode, um so latente Erkrankungen des hämopoetischen Apparates zu ermitteln. Sie beschrieben bei oft normalen peripheren Leukocytenzahlen eindrucksvolle Funktionsstörungen bei Erkrankungen der Leukopoese. Eine ganze Reihe von Autoren prüfte verschiedenste Cytostatika mit diesem Verfahren in ihrer Wirkung auf das Knochenmark. Sie sahen alle eine beträchtliche Beeinflussung der Funktionsreserven.

Diese Leukocytenkurven zeigten alle das charakteristische Bild der Regulationsstarre mit einem völlig refraktären Verlauf (EHRHARDT, FISCHER²⁶, KRATSCH, SCHERMUND⁵⁶, I. HEILMEYER³⁶ u.a.). Dabei konnten EHRHARDT und FISCHER einen wesentlich stärkeren Einfluß der Cytostatika auf das Knochenmark beschreiben als bei der Röntgentherapie.

Auch Endoxan, das durch das Transportform-Wirkformprinzip eine größere therapeutische Breite besitzt als alle anderen alkylierenden Substanzen (DRUCKREY²², H. ARNOLD¹ u.a.), zeigt in höheren Dosen einen stärkeren Leukocytensturz (DENK^{13,14}). Die Pyripherreizkurve verläuft plateauartig ohne jede Erhebung und zeigt sich völlig starr (DROSTE, DORSZEWSKI und KOCH²¹). Auch dieses Medikament führt zu einer Ausschwemmungssperre der Leukocyten. Bei subletalen Dosen zeigt sich eine besonders ausgeprägte Pannmyelopathie mit relativ langer Störung. Ein Abklingen wird erst am achten Tag der Belastung gesehen (DROSTE²¹ und Mitarbeiter).

Für die alkylierenden Substanzen wird also ein unspezifischer Eingriff in den Nukleinsäurestoffwechsel angenommen,

der nach PÜTTER und DOMAGK möglicherweise die aerobe Glykolyse beeinflusst.

b) Antimetabolite - Folsäure- und Purinantagonisten

Die Desoxyribonukleinsäure des Kerns nimmt bekanntlich eine zentrale Stelle bei der Zellteilung ein. Der Organismus synthetisiert zum größten Teil die Bausteine, die Purin- und Pyrimidinbasen, selbst. Nur bei dem ungezügelten und rapiden Wachstum der Geschwülste reicht dieser Bedarf nicht aus, und so greift die Zelle auf die Nahrungspurine bzw. Pyrimidine zurück. Nach diesen Überlegungen eröffnen sich den Antimetaboliten zwei Wege, die Struktur der DNS zu zerstören:

1) Die Störung der Synthese

Nach GREENBERG²⁹ spielt die Folsäure als Vorstufe des Citrovorumfaktors (CF) im Metabolismus der N-Basen eine führende Rolle. Denn an zwei Stellen fördert der CF den Einbau von C-Atomen in das Puringerüst, die aus der Carboxylgruppe des Acetats oder Formiats stammen. Die Folsäureantagonisten, an C₄ aminiert und bei N₁₀ methyliert, verhindern die Umwandlung der Folsäure zum Citrovorumfaktor und interferieren andererseits mit dem Citrovorumfaktor selbst. Die Hauptvertreter sind hier Methotrexat und besonders das Amepthopterin.

2) Die Purin-Pyrimidinantagonisten

Diese zweite therapeutische Möglichkeit basiert auf der Vorstellung, mit der peroralen Zufuhr von unvollständigen N-Basen die Nukleinsäuresynthese zu stören. Der Einbau von diesen veränderten Purin-bzw. Pyrimidinbasen in den Zellkern ist um so stärker, je größer die Wachstumsgeschwindigkeit der Gewebe ist. So ergab sich die Vorstellung, daß diese Chemikalien, in das Nukleinsäuregerüst eingebaut, die identische Reduplikation verhindern. Hierhin zählte man als Purinantagonist das 6-Merkaptopurin. Der primäre Angriff in der Krebszelle soll aber bei den Antipurinen in einer Funktionshemmung des ATPs liegen und nicht, wie früher vermutet, in der Syntheseblockierung der DNS (BURK, HOCHSTEIN^{7,11}). Diese Autoren nehmen für die genannten Substanzen eine Hemmung der Hexokinase-Reaktion durch deren Einfluß auf das Coenzym ATP an. Möge nun der pharmakologische Angriffspunkt in einer Blockierung der DNS-Synthese gesehen werden oder

möge er in einer funktionellen Hemmung des Coenzyms ATP in der Hexokinase-Reaktion liegen, beide Mechanismen greifen zentral in den Stoffwechsel ein. Aus beiden Angriffspunkten erklärt sich die große Toxizität dieser Derivate. Neben Schleimhautulcerationen treten als gefährliche Nebenwirkungen Hypoplasien des Knochenmarkes auf. Schon in therapeutischen Dosen bewegen sich alle diese Derivate in der Nähe der Letalitätsgrenze (EMMENEGGER²⁵, HURACHER⁴⁶). Die Vermutung von BURK und HOCHSTEIN rückt aber die Bedeutung der Hexokinase-Reaktion wieder mehr in den Vordergrund. Es erhebt sich die Frage, wie es mit der Warburgschen These steht, und wie andere Gruppen auf das Tumorstadium wirken.

c) Bedeutung der Hexokinase-Reaktion

Trotz vieler Widersacher (LE PAGE⁶⁰ und HENDERSON, WEINHOUSE⁹⁰) gegen die Entdeckung der aeroben Glykolyse verteidigt WARBURG^{83,84,85,86,82} seine Idee der Krebsentstehung. Er erklärt diesen Vorgang durch zwei Phasen. Der erste Faktor stellt eine irreversible Schädigung der Atmung dar. Alle exogenen, kanzerogenetischen Reize wirken letzten Endes über diesen Mechanismus. In einem zweiten Schritt lernt die Krebszelle, um zu überleben, jenen Energieverlust durch die aerobe Glykolyse zu ersetzen. WARBURGs funktionelle Befunde erhalten durch DOMAGK¹⁸ ihre morphologischen Äquivalente. Dieser beschreibt bei den Krebszellen morphologische Veränderungen in den Mitochondrien, den Trägern der Atmungsfermente. Dem hingegen aber glaubt WEINHOUSE⁹⁰, in der verstärkten Fermentation der Tumorgewebe eine anaerobe Glykolyse zu erkennen, die durch eine normal funktionierende Atmung nicht mehr beeinflusst werden kann. Mit anderen Worten, trotz normaler Atmung ist der Pasteur-Effekt gestört. Auch DRUCKREY, BRESCIANI und SCHNEIDER²³ weisen auf eine normale Respiration im Tumor hin und vermuten in der Glykolyse nicht die Ursache, sondern die Folge der krebsigen Entartung. Nach dem Verlust organspezifischer Funktionen sollen diese Zellen aus dem "Regelsystem" des Organismus ausgeschlossen werden. Zu dieser Vorstellung paßt auch zwanglos die Entdeckung von WOODS^{91,96,97} und BURK¹⁰. An Hand von vielen Versuchen demonstrierten sie, daß der Krebszelle die Zügelung der Hexokinase-

Reaktion durch die Antiinsulin-Hormone fehlt. Die verringerte hormonale Bremsung, die in ihr abgeschwächt funktioniert oder ganz verloren ging, ist die Grundlage der gesteigerten Glykolyse. Somit kommt der Glukosephosphorylierung durch die ungehemmte Hexokinase-Reaktion im Krebsstoffwechsel eine bedeutende Rolle zu. Aus dem gestörten Gleichgewicht vom Insulin-Antiinsulin-System fördert BURK⁷ eine sinnvolle Beeinflussung des Krebsstoffwechsels durch Hemmung der Glukosephosphorylierung.

d) Verdrängung der Hexokinase

Da die Glykolyse, aerob oder anaerob, im Stoffwechsel des Karzinoms eine besondere Rolle spielt, wird durch die Beeinflussung der Hexokinase das Tumorstoffwachstum relativ spezifisch getroffen. Durch die Blockierung der Glykolyse an der zentralen Stelle wird der Krebszelle der Energienachschub geraubt, ohne dabei in hohem Maße unspezifisch toxisch zu wirken. In diese Reihe gehören die Sexualhormone, besonders Testosteron und Diäthylstilböstrol, weiter die Nebenrindenhormone und die antiinsulinwirksamen Lipoproteide des Hypophysen-Verderlappens. Die Hormone sind aber im wesentlichen in ihrer Anwendung auf innersekretorisch ansprechbare Tumoren beschränkt. Neben der antagonistischen Wirkung und der rückkoppelnden Hemmung auf die Hypophyse wirken die Sexualhormone spezifisch im Tumorstoffwechsel. Sie greifen regulierend in die Insulin-Antiinsulin-Balance ein. Durch das Übergewicht der antiinsulinären Hormone wird die Hexokinase von ihrem Wirkungsplatz verdrängt und die Glykolyse unterbrochen. Schließlich zählt zu diesen Enzymhemmern auch Podophyllo-toxin und α - und β -Peltatin. Auch sie beeinflussen alle das gestörte Gleichgewicht Insulin : Antiinsulin und unterstützen die Empfindlichkeit der Tumorzellen für die hemmende Antiinsulinwirkung (WOODS, BURK^{93,94,95}). WARAVDEKAR^{80,81} beschreibt außer einer DPN-Synthesestörung durch Podophyllo-toxin eine 80 %ige Abnahme der Hexokinase während der ersten 24 Stunden. SCHMIDT⁷² sieht in der DPN-Synthesestörung ein Produkt der in vitro stark geschädigten Tumorzellen, also die Folge einer Nekrobiose. Im Wiederholungsversuch wurden solche Wirkungen nicht beobachtet. Wenn auch WOODS und HUNTER⁹¹ noch nach anderen Gesichtspunkten suchen, so gilt

doch bis heute für die Reaktion des Podophyllins die Auffassung BURKS⁷, daß es spezifisch die Hexokinase hemmt. Vergleicht man die recht erheblichen Nebenwirkungen der alkylierenden Substanzen und der Antimetabolite mit denen der Podophyllinderivate, so zeichnen sich die letzteren durch eine stärkere selektive Wirkung auf das Tumorstadium aus, wobei auch mit diesen Präparaten toxische Begleiterscheinungen nicht ausgeschlossen sind.

Rückblickend läßt sich also zum Problem der Chemotherapie der Tumoren sagen, daß mit einer ganzen Reihe Chemikalien verschiedene Stellen im Stoffwechsel der Krebszelle beeinflußt werden können. Trotz aller unterschiedlichen Wirkungsmechanismen sind die kanzerotoxischen Substanzen durch mehr oder weniger starke Nebenwirkungen auf das Knochenmark belastet. Es handelt sich also nur um quantitative Nuancen im selben Problem der Schädigung der Leukopoese.

Die alkylierenden Substanzen greifen unspezifisch in die RNS-Synthese ein und hemmen so den Aufbau von Fermenten, Cofermenten und Proteinen. Sie treffen alle schnell wachsenden Gewebe. Nicht nur der Tumor wird in seinem Wachstum gestört, sondern auch die Leukopoese.

Antimetabolite, bisher als Folsäure- bzw. Purinantagonisten angesehen, sollen auch funktionell das Coenzym ATP beeinflussen und damit vorwiegend die Hexokinase-Reaktion der Glykolyse blockieren. Aber auch hier sind beträchtliche Nebenwirkungen einzukalkulieren.

Die dritte Gruppe verdrängt das Enzym Hexokinase. Hierher gehört Podophyllin. Nebenwirkungen sind auch hier nicht ausgeschlossen. Sie sind jedoch geringer als bei den bisher bekannten Cytostatika.

II. EIGENE VERSUCHE

A Fragestellung

Nach den bisherigen Ausführungen steht die gehemmte Hexokinase-Reaktion im Mittelpunkt der kanzerotoxischen Wirkung des Podophyllins. Dieser Metabolismus erklärt seinen relativ selektiven Angriff auf das Tumorwachstum. STAMM⁷⁵, WEDER⁸⁹, HUBACHER^{46,45} u.a. sahen nach Belastungen mit dem Cytostatikum SP-I und SP-G am Patienten bei guten kanzerostatischen Effekten keine Leukopenie im peripheren Blutbild. Es erhebt sich hier die Frage, ob man aus dem Blutstatus einen bindenden Rückschluß auf die Knochenmarksfunktion ziehen kann. MÖSCHLIN⁶³ verweist auf Substanzen, bei denen ohne sichtbare Leukopenie, das Knochenmark auf Reize dennoch nur sehr langsam Leukocyten in die Peripherie entläßt.

Mit meiner Arbeit versuche ich demnach, auf folgende Fragen eine Antwort zu finden:

- 1) Wie verhält sich das Knochenmark der Ratte bei einem Pyriferreiz nach Dauerbelastungen mit fraktionierten, steigenden Dosen von SP-I bzw. SP-G ?
- 2) Zeigen die Dauerversuche im Vergleich mit einmaligen stoßweisen Dosierungen des Cytostatikums Unterschiede in der Knochenmarksreaktion bei der Ratte?
- 3) Es ist noch die Frage der Regeneration des Knochenmarks nach Funktionsschäden der Leukopoese durch SP-I und SP-G zu testen.

B Methodik

Zu den Versuchen wurden insgesamt 217 weibliche Albinoratten mit einem Gewicht von ca. 250 - 300 g benutzt. Davon entfielen im einzelnen 28 Tiere auf die Vorversuche, 84 Tiere auf die Wochenkurven, 86 auf Stöße und 19 Ratten auf

Regenerationsversuche. Die Nahrung bestand aus ALTOMIN Trockenfutter und Wasser ad libitum.

Jede Versuchsgruppe umfaßte 5 Tiere. Die Knochenmarksprüfung wurde nach der von Moeschlin erstmalig angegebenen Methode durchgeführt. Verwandt wurde das obengenannte Mittel Pyrifer der Asta-Werke, Brackwede. Es handelt sich hierbei um einen Eiweißkörper aus nichtpathogenen Bakterienstämmen der Coli-gruppe. Eine Einheit Pyrifer entspricht einer Million Keimen. Jedem Tier einer Gruppe wurden die gleichen Dosen verabreicht.

Nachdem ich zunächst in Vorversuchen mit verschiedenen Mengen Pyrifer begann, ergab eine Dosierung von 2,5 E schließlich die optimale Leukocytenreaktion. Die Kurven wurden graphisch dargestellt, und der Mittelwert dabei von den jeweiligen Versuchstieren besonders herausgestrichen. Auf eine prozentuale Angabe der Leukocytenausschwemmung mußte wegen der erheblichen Schwankungen, durch die Wildersche Ausgangsregel verursacht, verzichtet werden. Pyrifer wurde mit dünnen Kanülen intramuskulär injiziert.

Die Hauptversuche teilte man in drei große Gruppen ein. Bei der ersten galt es, fraktioniert während einer Woche täglich die gleichen Mengen SP-I bzw. SP-G zuzuführen. Der Versuch endete mit einer Pyriferbelastung am 8. Tag. Zu dieser Versuchsgruppe gehören auch die zwei Serien von je 5 Ratten mit einer Laufzeit von 49 Tagen. In einer zweiten Gruppe wurden durch einmalige Belastungsstöße mit dem Cytostatikum SP-I und SP-G die Knochenmarksfunktion geprüft. Schließlich zeigte eine dritte Versuchsgruppe die Regenerationsfähigkeit des hämopoetischen Apparates nach einer Schädigung mit sehr hohen Dosen dieser Antimitotika.

Das Mittel SP-I wurde 1 : 50 in physiol. NaCl-Lösung verdünnt und intravenös in die Schwanzvene injiziert. SP-G mußte erst in aqua dest. gelöst und mit einer Magensonde den Ratten eingebracht werden. Das Blut entstammt der Schwanzspitze, nachdem diese durchtrennt war. Die ersten Tropfen wurden verworfen. Anschließend zog man in entsprechenden Pipetten Blut zur Leukocytenbestimmung auf, verdünnte mit 3 %iger Essigsäurelösung, schüttelte gut durch und zählte in der Thoma-Zeiss-Kammer aus. Um größere Blutungen zu vermeiden, wurde das Schwanzende abschließend mit einem Faden um-bunden.

Versuchsbeschreibung

1A Vorversuche

Serie A

Leerversuche, Leukocytenkontrolle an unbehandelten Tieren.

1. Versuchsreihe - Sie umfaßte eine Gruppe von 4 Ratten. Während einer Zeitspanne von 8 Stunden wurden diesen Tieren jede 2.Stunde Blut aus der Schwanzspitze entnommen und die Leukocyten ausgezählt. Das arithmetische Mittel der 4 Tiere und die Leukocyten sind aus der Tabelle I zu entnehmen.

Tabelle I

2-stündliche Leukocytenkontrolle an unbehandelten Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
=0-Wert	17 000	11 800	9 400	7 300	11 375
2. Std.	17 000	8 500	14 700	7 700	11 975
4. Std.	16 000	12 300	9 300	8 800	11 600
6. Std.	16 500	13 000	8 400	8 600	11 625
8. Std.	16 000	13 100	8 500	8 200	11 450

2. Versuchsreihe - Bei 4 Ratten bestimmte man den leukocyitären Ausgangswert. Anschließend injizierte ich 1 ccm physiol. NaCl-Lösung intravenös in die Schwanzvene jedes Tieres. Nach 2, 4, 6 und 8 Stunden wurden die weißen Blutkörperchen kontrolliert und in die Tabelle II eingetragen.

Tabelle II

1 ccm physiol. NaCl-Lösung i.v. 4 Tieren appliziert

vor der Injekt.	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
=0-Wert	16 900	18 300	19 800	11 700	16 675
2.Std.	17 200	17 800	20 300	10 200	16 375
4.Std.	17 000	16 700	20 000	12 400	16 625
6.Std.	17 200	17 200	20 300	10 200	16 375
8.Std.	17 500	17 100	20 400	9 800	16 200

Serie B

Pyriferversuche mit verschiedenen Einheiten (1; 2,5; 3,5)

1. Versuch - Niedrige Dosis (1 E)

Es wurden an 5 Tieren die peripheren Leukocyten ermittelt. Daraufhin schüttelte man 1 Ampulle Pyrififer (1 ccm) mit 10 E und verdünnte sie im Verhältnis 1 : 10 in steriler phsiol. NaCl-Lösung. Jedem Tier spritzte man 1 ml = 1 E Pyrififer in den Oberschenkel. Anschließend zählte man die weißen Blutkörperchen zur 2., 4., 6., 8. Stunde. Die Werte sind in Tabelle III eingeschrieben.

Tabelle III

1 E Pyrififer i.m. an 5 Tieren getestet

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
=0-Wert						
Pyrififer	19 500	22 900	20 000	21 600	17 000	20 200
2.Std.	9 900	20 100	21 900	20 700	18 600	18 240
4.Std.	17 200	19 500	15 600	23 100	23 800	19 840
6.Std.	20 700	16 300	15 300	17 400	21 700	18 280
8.Std.	11 000	13 900	12 800	11 500	24 800	14 800

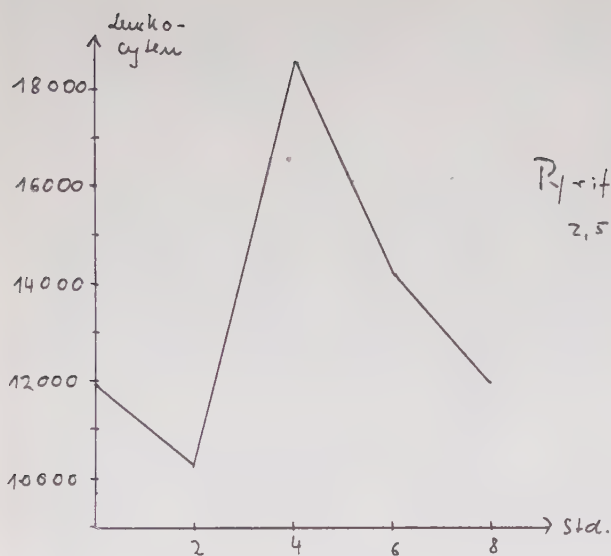
2. Versuch - Mittlere Dosen Pyrififer

a) 2,5 E Pyrififer applizierte man 5 Ratten. Eine Ampulle wird 1 : 4 mit steriler physiolog. NaCl-Lösung verdünnt, 1 ml je Tier injiziert. Die Werte und graphische Aufzeichnung sind aus Tabelle IVa und Abb. IVa zu ersehen.

Tabelle IVa

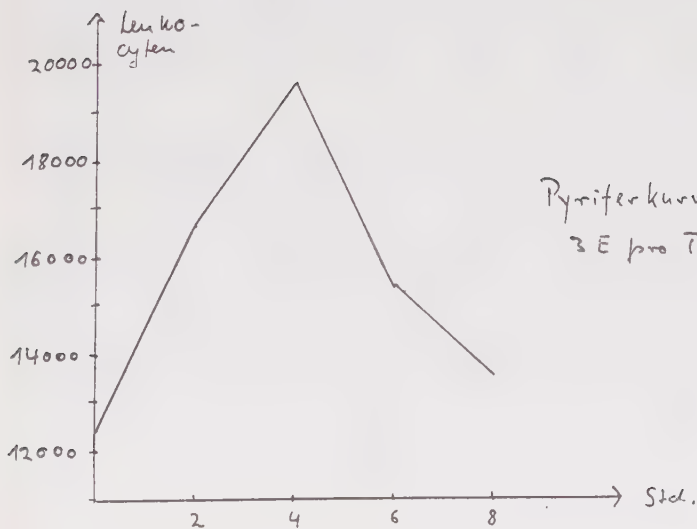
5 Ratten 2,5 E Pyrififer i.m.

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
=0-Wert						
Pyrififer	13 600	11 100	11 100	12 600	11 400	11 900
2. Std.	10 300	10 800	9 700	11 000	9 900	10 340
4. Std.	28 300	15 200	14 600	19 900	15 300	18 660
6. Std.	18 300	10 300	13 300	16 300	12 800	14 200
8. Std.	18 300	9 300	10 200	12 300	10 300	12 080



Pyriterkurve IV a
2,5 E pro Tier

Abb. IV a



Pyriterkurve IV b
3 E pro Tier

Abb. IV b

b) 5 Ratten belastete man mit 3 E Pyrifer. 3 Ampullen verdünnte man mit 10 ml NaCl, also im Verhältnis 3 : 10. 1 ml der Lösung wurde jedem Tier zugeführt. Die Werte und Kurven sind aus Tabelle IVb und Abb. IVb zu entnehmen.

Tabelle IVb

5 Ratten mit 3 E Pyrifer

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
=0-Wert	11 300	12 900	11 500	11 700	14 300	12 340
2.Std.	12 400	23 100	16 200	15 100	16 600	16 680
4.Std.	16 300	30 300	16 000	17 200	18 200	19 600
6.Std.	14 700	21 200	11 000	14 800	15 300	15 400
8.Std.	13 400	18 600	10 400	11 800	13 700	13 580

3. Versuch - hohe Dosis: (5 E)

5 E Pyrifer wurden an 5 Tieren getestet. Dazu nahm man 5 Ampullen des Fiebermittels und löste sie in 10 ml physiol. NaCl auf. Also im Verhältnis 5 : 10 verdünnt. Es wurden wieder pro Tier 1 ml Lösung injiziert.

Tabelle V

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
=0-Wert	14 600	7 600	13 600	18 100	13 600	13 500
2.Std.	12 300	5 800	19 000	13 800	4 400	11 060
4.Std.	16 300	8 400	19 300	16 900	16 400	15 460
6.Std.	11 000	10 200	14 700	15 000	9 500	12 080
8.Std.	9 600	8 300	18 300	18 700	15 500	14 080

CB Hauptversuche

Gruppe I - Dauerbelastung, fraktionierte Zufuhr von verschiedenen hohen Dosen SP-I und SP-G

Serie A

Zu Versuchsbeginn wurden die Leukocyten im peripheren Blut aus der Schwanzvene entnommen und als Ausgangswert bestimmt.

Anschließend wurden täglich 7 Tage lang für die

1.Versuchsreihe 5,7 mg/kg SP-I intravenös in die Schwanzvene injiziert. Zusammen also 7 x 5,7 mg/kg = ca.40 mg/kg Körpergewicht.

2. Versuchsreihe 11,4 mg/kg SP-I i.v. nach dem gleichen Prinzip durchgeführt, insgesamt 7 x 11,4 mg/kg SP-I = ca. 80 mg/kg Körpergewicht.

Eine Ampulle SP-I enthält 1 ccm. Diese wurde in einer sterilen Spritze mit 50 ccm physiol. NaCl-Lösung verdünnt. Weiterhin waren die Leukocyten täglich zu kontrollieren. Die Werte sind in entsprechende Tabellen eingetragen. 24 Stunden nach der letzten Injektion belastete man die Tiere zur Knochenmarksprobe mit je 2,5 E Pyrif. Vor der Injektion in den Oberschenkel zählte man die Leukocyten aus. Das ergab den 0-Wert der Pyriferkurve. Sofort anschließend injizierte man den abgetöteten Bakterienstoff intramuskulär. Die Leukocytenreaktion verfolgte man während 8 Stunden jede 2. Stunde. Die Werte sind in die Tabellen eingetragen worden, und aus dem arithmetischen Mittel der jeweiligen Gruppe wurde eine Kurve graphisch dargestellt.

Versuchsreihe 1 Zwei Gruppen, eine mit 5, die andere mit 4 Tieren, wurden nach genanntem Verfahren 5,7 mg/kg SP-I injiziert. Am 8. Tag erfolgte die Pyriferkurve. Die Werte sind in den Tabellen 1a und 1b festgehalten. Die Kurven sind aus den Abbildungen 1a und 1b zu entnehmen.

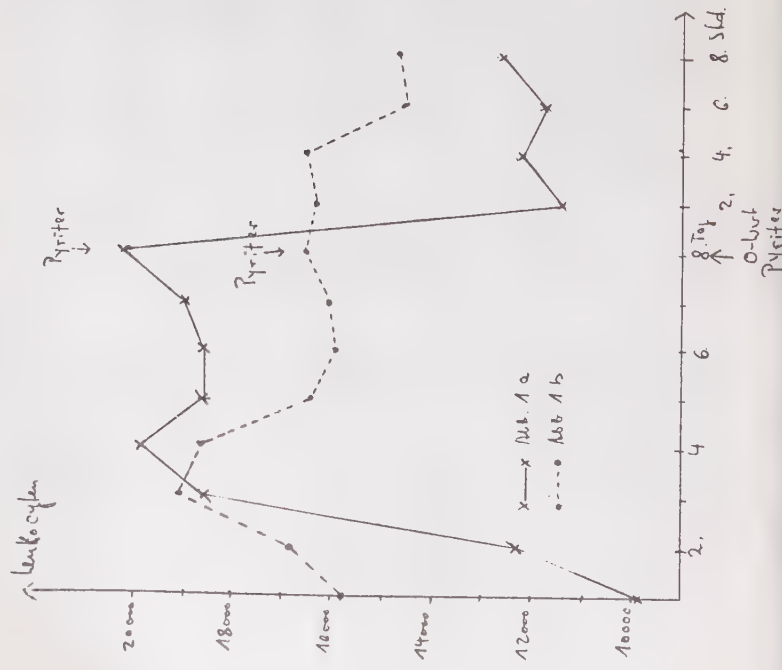
Tabelle 1a

5,7 mg/kg SP-I i.v. täglich bei 5 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor der Injektion	11 100	11 100	10 600	5 900	10 700	9 550
2. Tag	11 400	18 400	12 600	7 000	11 400	12 350
3. Tag	19 200	20 500	24 600	8 800	20 000	18 620
4. Tag	15 500	24 000	26 100	13 500	20 500	19 920
5. Tag	14 700	24 300	21 600	11 200	21 600	18 680
6. Tag	12 900	25 500	16 600	10 500	24 800	18 600
7. Tag	12 300	22 600	18 400	16 000	25 700	19 000
8. Tag						
=0-Wert						
Pyrifer	23 700	23 600	20 800	10 000	23 500	20 320
2. Std.	17 300	9 700	9 900	9 700	10 500	11 420
4. Std.	16 800	10 400	8 800	7 400	17 700	12 220
6. Std.	10 100	8 400	14 300	10 300	15 600	11 720
8. Std.	14 400	7 500	14 400	8 200	18 700	12 640

54 mg/kg SP-2 i.v. bzgl. und Pyrites am 8. Tag

Abb. 1 a + b



114 mg/kg SP-2 i.v. bzgl. und Pyrites am 8. Tag

Abb. 2 a + b

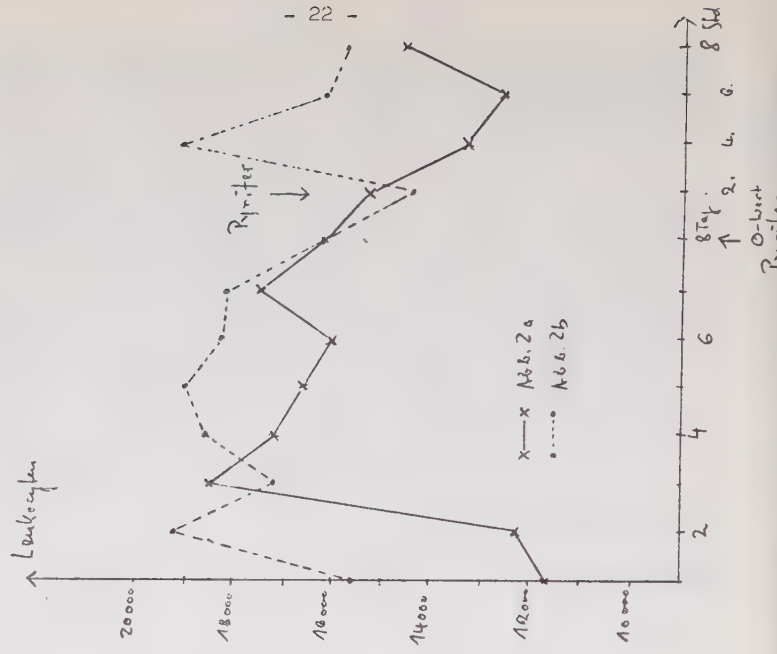


Tabelle 1b

5,7 mg/kg SP-I i.v. täglich bei 4 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
vor der Injektion	22 500	12 600	20 600	7 500	15 800
2. Tag	23 300	10 800	23 600	10 200	16 900
3. Tag	30 600	11 400	24 700	9 700	19 100
4. Tag	31 800	12 300	21 400	9 300	18 700
5. Tag	29 900	11 500	14 200	9 900	16 375
6. Tag	24 900	13 800	13 100	11 900	15 925
7. Tag	25 900	12 900	13 700	12 100	16 150
8. Tag =0-Wert Pyrifer	27 600	13 000	13 100	12 900	16 650
2. Std.	21 000	15 900	14 000	14 600	16 375
4. Std.	23 100	12 600	16 900	9 800	16 600
6. Std.	24 900	8 500	13 400	11 200	14 500
8. Std.	24 900	10 600	18 600	8 600	15 675

Versuchsreihe 2 - 11,4 mg/kg SP-I wurden intravenös an zwei Gruppen mit 4 bzw. 5 Tieren während einer Woche nach obengenanntem Verfahren getestet. Die Werte sind in die Tabellen 2a und 2b eingetragen. Aus den Abbildungen 2a und 2b (Seite 22) erkennt man zusätzlich die Pyriferkurven des jeweiligen 8. Tages.

Tabelle 2a

11,4 mg/kg SP-I täglich i.v. 7 Tage lang bei 4 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
vor der Injektion	19 800	12 500	8 900	17 200	11 680
2. Tag	21 500	19 900	8 300	18 800	12 300
3. Tag	18 700	12 300	19 700	25 200	18 525
4. Tag	23 800	7 700	12 300	24 300	17 250
5. Tag	21 600	16 900	10 600	17 400	16 625
6. Tag	21 200	18 400	10 600	14 000	16 040
7. Tag	23 100	17 500	15 500	14 100	17 550
8. Tag =0-Wert Pyrifer	19 000	18 200	12 900	14 900	16 250
2. Std.	17 100	17 800	14 800	10 600	15 300
4. Std.	13 900	12 400	13 200	14 200	13 425
6. Std.	18 900	8 900	7 500	16 100	12 575
8. Std.	16 200	12 300	8 800	21 500	14 700

Tabelle 2b

11,4 mg/kg SP-I i.v. täglich während einer Woche bei
5 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor der Injektion	21 300	11 500	15 100	14 600	(13 400)	15 625
2. Tag	26 400	16 300	18 800	15 300	(14 600)	19 200
3. Tag	26 200	16 900	11 800	13 900	(13 800)	17 200
4. Tag	31 100	11 600	14 600	7 100	+	18 600
5. Tag	35 200	18 200	11 100	11 500	+	19 000
6. Tag	32 900	15 200	14 100	11 000	+	18 300
7. Tag	30 800	13 600	15 100	13 400	+	18 230
8. Tag						
=0-Wert Pyrifer	24 300	19 300	10 100	10 500	+	16 100
2. Std.	24 300	16 100	9 300	7 900	+	14 400
4. Std.	27 200	26 000	12 200	11 100	+	19 130
6. Std.	26 300	14 700	12 900	11 000	+	16 230
8. Std.	22 200	14 400	13 000	13 000	+	15 850

Tier Nr. 5 verendete am 3. Tag.

Die Mittelwerte stammen von den 4 überlebenden Ratten.

Serie B

Bei dieser Versuchsreihe wurden keine Cytostatika gegeben.
In einzelnen Schritten galt es, den Fehlermöglichkeiten der
Versuchsserie A nachzugehen.

1. Versuchsreihe - Sie sollte Aufschluß auf die Frage geben, in welchem Maße die kleinen Verletzungen an der Schwanzspitze bei der Blutentnahme die Leukocytenzahl beeinflussen. Zu diesem Zweck wurde einer Gruppe von 5 Tieren täglich ein kleines Ende an der Schwanzspitze entfernt. Das dadurch gewonnene Blut benutzte man zur Bestimmung der weißen Blutkörperchen. Diesen Versuch erstreckte man auf eine Zeit von 8 Tagen. Nach der letzten Blutentnahme schloß sich die Knochenmarksprüfung an. Jedes Tier erhielt 2,5 E Pyrifer intramuskulär in den Oberschenkel. Die Leukocytenbewegung verfolgte man zweistündlich, bis zur 8. Stunde der Ausgangswert erreicht war.

Einen Überblick von der Leukocytenreaktion und der Mittelwertskurve vermittelt Tabelle 3 und Abbildung 3.

Tabelle 3

tägliche Leukocytenkontrolle 7 Tage lang bei 5 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
1. Tag	12 400	14 900	18 000	15 100	14 200	14 920
2. Tag	11 500	14 800	18 900	15 100	11 200	14 300
3. Tag	14 200	14 900	16 600	14 700	14 000	14 880
4. Tag	14 500	13 900	18 000	16 300	13 700	15 280
5. Tag	13 200	14 900	18 600	19 800	13 100	15 920
6. Tag	12 100	12 900	19 700	16 000	17 500	15 420
7. Tag	11 400	12 500	20 400	13 000	13 200	14 100
8. Tag =0-Wert						
Pyrifer	11 700	15 700	19 300	15 500	11 700	14 780
2. Std.	13 500	13 100	16 500	13 000	16 900	14 600
4. Std.	17 700	18 900	19 100	21 100	16 000	18 560
6. Std.	13 200	13 100	19 900	13 500	12 700	14 480
8. Std.	11 700	12 100	22 500	13 500	11 000	14 100

2. Versuchsreihe - Nach der täglichen Leukocytenkontrolle wurden bei 5 Tieren anschließend 2 ccm physiol. NaCl-Lösung injiziert. Am 8 Tag erfolgte nach bekanntem Verfahren die Knochenmarksprüfung mit 2,5 E Pyrifer pro Tier. Die Injektionen applizierte man intravenös in die Schwanzvene.

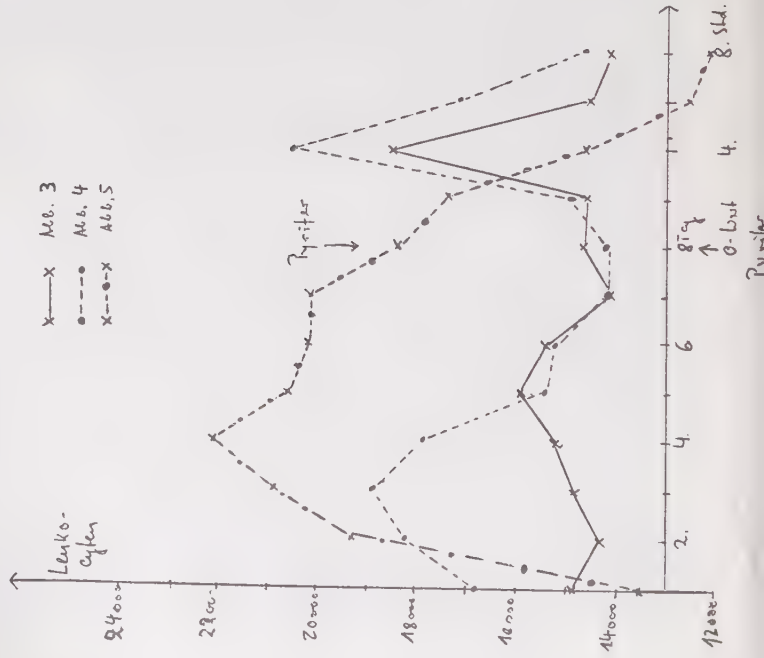
Die Leukocytenzahlen und die Mittelwertskurven vermitteln Tabelle 4 und Abbildung 4.

Tabelle 4

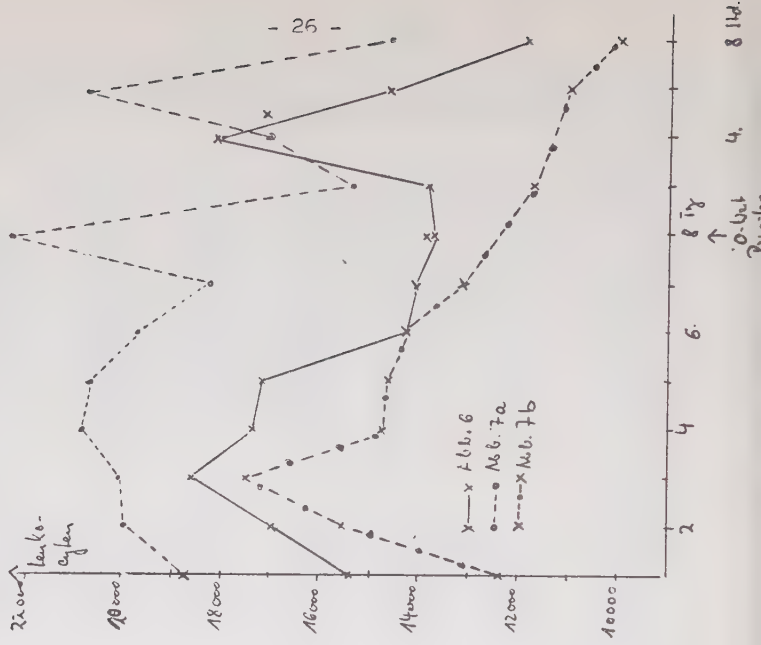
2 ccm NaCl i.v. bei 5 Tieren während einer Woche

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor der Injektion	23 700	15 200	15 400	14 600	15 100	16 800
2. Tag	35 500	13 800	17 900	12 800	10 900	18 180
3. Tag	34 300	18 900	20 800	11 900	8 300	18 840
4. Tag	31 300	15 600	17 700	15 000	10 800	17 880
5. Tag	25 100	11 400	16 700	15 200	8 700	15 420
6. Tag	22 900	14 200	18 600	10 700	8 700	15 200
7. Tag	19 700	18 600	12 600	11 800	8 500	14 240
8. Tag =0-Wert						
Pyrifer	23 500	14 700	12 500	10 400	10 000	14 220
2. Std.	24 200	14 300	12 100	12 600	11 100	14 870
4. Std.	24 600	15 300	21 500	17 600	23 300	20 470
6. Std.	20 300	14 600	16 400	11 900	17 700	17 180
8. Std.	17 200	13 200	13 400	11 500	17 900	17 740

Kontrollwunde während eines Wides und Pyrus am 8. Tag
(Abb. 3, 4 und 5)



Wunden von mit SP-8 p. o. k. g. und Pyrus
am 8. Tag (Abb. 6, 7a + 7b)



3. Versuchsreihe - Dieser Versuch unterscheidet sich von dem vorhergehenden nur darin, daß hier bewußt 5 Tieren täglich 2 ccm NaCl-Lösung (physiologisch) paravenös in den Schwanz eingespritzt wurden. Vor den Injektionen bestimmte man wieder jeweils die Leukocytenzahl. Am 8. Tag endete der Versuch mit der Pyrifibelastung von 2,5 E pro Tier.

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe erläutern Tabelle 5 und Abbildung 5.

Tabelle 5

täglich 2 ccm 0,9 %ige NaCl p.v. 7 Tage lang bei 5 Ratten

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor der Injektion	11 400	19 200	11 000	16 400	9 700	13 540
2. Tag	12 100	29 600	13 700	27 900	13 200	19 300
3. Tag	16 400	29 400	9 500	35 400	13 600	20 860
4. Tag	15 700	37 300	9 900	31 100	16 700	22 140
5. Tag	15 200	37 900	9 400	24 500	16 200	20 640
6. Tag	10 500	35 600	14 400	25 600	14 900	20 200
7. Tag	11 900	35 000	14 000	27 200	13 900	20 400

8. Tag

=0-Wert

Pyrifiber	15 700	27 700	13 800	21 600	11 600	18 080
2. Std.	14 100	27 100	11 700	25 200	8 700	17 360
4. Std.	11 500	+	17 200	18 800	10 900	14 600
6. Std.	9 700	+	13 500	16 400	10 600	12 550
8. Std.	9 700	+	12 100	15 700	10 800	12 075

Das Tier Nr. 2 starb nach der zweiten Stunde der Reizkurve. Bei den Durchschnittswerten wurde dieser Verlust berücksichtigt.

Serie C

Ist im Prinzip ähnlich wie die Serie A. Auch hier werden fraktionierte Dauerbelastungen während einer Woche durchgeführt. Aber man benutzte hier das lösliche Mittel SP-G und verabreichte es in verschiedenen hohen Dosen peroral durch eine Magensonde.

1. Versuchsreihe - Einer Gruppe von 5 Tieren wurden die Leukocyten ausgezählt. Daraufhin führte man vermittels einer

Magensonde 2,85 mg/kg SP-G peroral zu. 7 Tage lang wiederholte man diesen Vorgang: Leukocyten-Zählen, anschließend 2,85 mg/kg SP-G-Einspritzen. Am 8. Tag wurde nach der Blutentnahme 2,5 E Pyrifer i.m. injiziert.

Die Werte und die Mittelwertskurve der zweistündlichen Kontrolle der weißen Blutkörperchen zeigen Tabelle 6 und Abbildung 6.

Tabelle 6

Wochenkurve mit 2,85 mg/kg SP-G p.o. bei 5 Ratten

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Mittel	18 800	20 700	16 800	10 400	10 400	15 420
2. Tag	23 300	22 700	16 800	11 800	10 600	17 040
3. Tag	17 200	27 500	23 600	11 400	14 000	18 740
4. Tag	15 500	26 200	13 700	10 100	1 700	15 400
5. Tag	17 200	23 500	15 900	11 100	8 300	15 200
6. Tag	15 600	18 600	14 800	11 600	10 700	14 260
7. Tag	15 700	19 800	11 700	13 600	9 800	14 120
8. Tag = 0-Wert Pyrifer	16 200	19 800	11 000	9 700	11 700	13 680
2. Std.	14 200	24 700	11 100	8 900	10 700	13 920
4. Std.	21 600	27 800	12 500	13 500	16 300	18 140
6. Std.	12 100	23 600	11 900	9 500	16 000	14 620
8. Std.	11 000	21 000	12 200	10 000	15 400	11 960

2. Versuchsreihe - Eine Versuchsgruppe von einmal 4 Tieren und eine Wiederholungsgruppe mit 5 Tieren erhalten pro Tag nach der Leukocytenkontrolle während einer Woche 5,7 mg/kg SP-G p.o. Nach 8 Tagen erfolgte abschließend die Pyriferkurve mit 2,5 E pro Ratte.

Die Werte und die graphische Aufzeichnung der Mittelwertspunkte sind in Tabelle 7 a + b und in Abbildung 7 a und b zusammengestellt.

3. Versuchsreihe - Diese Versuchsgruppe bestand aus 5 Ratten. 11,4 mg/kg SP-G wurden peroral täglich gegeben und die Blutkörperchen numerisch bestimmt. Am 8. Tag belastete man die Tiere wieder mit einer Pyriferinjektion von 2,5 E/Ratte. Tabelle 8 und Abbildung 8 geben über diesen Versuch Auskunft.

Tabelle 7a

Wochenkurve mit 5,7 mg/kg SP-G bei 5 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Mittel	28 000	18 000	19 500	17 600	10 900	18 800
2. Tag	24 500	11 600	38 900	11 700	13 400	20 050
3. Tag	22 900	12 000	34 300	17 700	14 000	20 180
4. Tag	29 000	17 800	36 000	11 400	10 400	20 920
5. Tag	28 600	11 800	33 300	19 700	10 500	20 780
6. Tag	27 700	9 700	33 100	17 900	10 400	19 760
7. Tag	34 800	10 500	24 600	13 400	8 400	18 340
8. Tag						
=0-Wert						
Pyrifer	25 500	13 800	38 900	22 400	11 500	22 420
2. Std.	14 800	11 500	26 700	22 800	11 200	15 400
4. Std.	18 800	9 800	29 000	10 100	18 000	17 160
6. Std.	20 600	11 400	38 900	23 000	10 200	20 820
8. Std.	13 300	10 900	25 000	15 500	8 100	14 560

Tabelle 7b

Wochenkurve mit 5,7 mg/kg p.o. bei 4 Tieren 7 Tage lang

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
vor dem Mittel	7 700	11 100	15 400	15 600	12 450
2. Tag	13 600	10 600	17 100	21 300	15 650
3. Tag	12 600	12 300	20 400	24 500	17 475
4. Tag	14 100	9 900	19 400	15 700	14 775
5. Tag	8 000	15 600	18 300	16 800	14 675
6. Tag	11 400	14 100	15 300	16 600	14 350
7. Tag	11 700	10 500	14 700	16 100	13 250
8. Tag					
=0-Wert					
Pyrifer	11 100	10 500	15 500	18 600	13 925
2. Std.	8 500	10 500	12 600	15 200	11 700
4. Std.	16 600	14 100	17 700	20 600	17 250
6. Std.	8 300	8 400	13 500	13 900	10 025
8. Std.	8 000	7 900	12 100	12 000	10 000

Tabelle 8

Wochenkurve mit 11,4 mg/kg SP-G p.o. bei 5 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Mittel	15 700	6 600	8 800	9 800	12 900	10 760
2. Tag	16 200	9 600	12 000	13 300	10 700	12 360
3. Tag	16 500	10 400	9 500	15 300	10 200	12 380
4. Tag	9 700	10 100	11 200	12 300	11 200	10 900
5. Tag	12 000	10 100	7 800	8 900	10 800	9 900
6. Tag	11 500	9 600	8 300	11 000	10 900	10 260
7. Tag	12 600	7 000	8 400	10 300	10 100	9 680
8. Tag						
=0-Wert						
Pyrifer	18 100	12 000	8 300	9 600	9 800	9 560
2. Std.	21 800	11 500	7 000	10 000	11 500	12 360
4. Std.	24 300	16 100	10 500	14 500	13 100	15 700
6. Std.	16 100	13 100	11 400	10 000	12 800	12 760
8. Std.	15 900	12 400	10 700	10 100	10 400	11 840

4. Versuchsreihe - Unter den gleichen Versuchsbedingungen wurden hier an 5 Ratten während einer Woche 20 mg/kg SP-G p.o. getestet. 24 Stunden nach der letzten Eingabe erfolgte die Pyriferkurve. Tabelle 9 und Abbildung 9 sind die Unterlagen dieses Versuches.

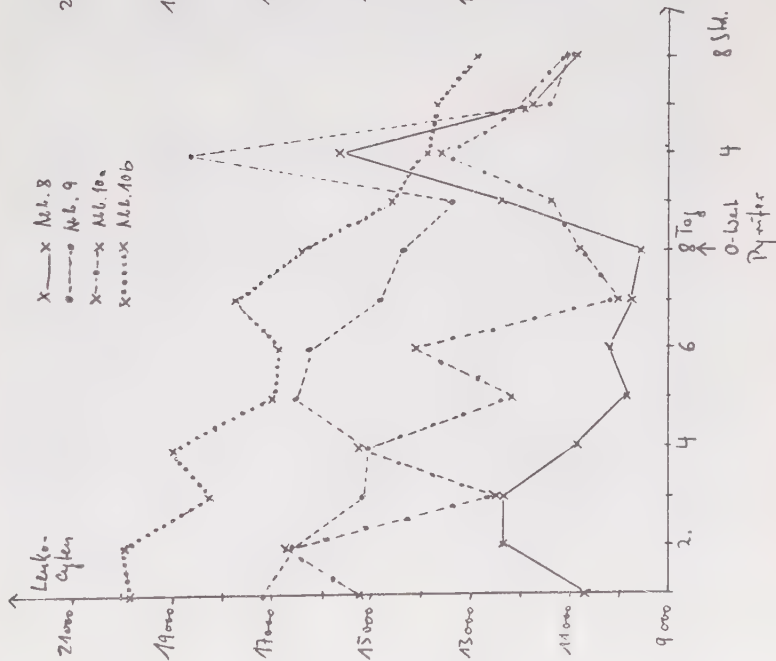
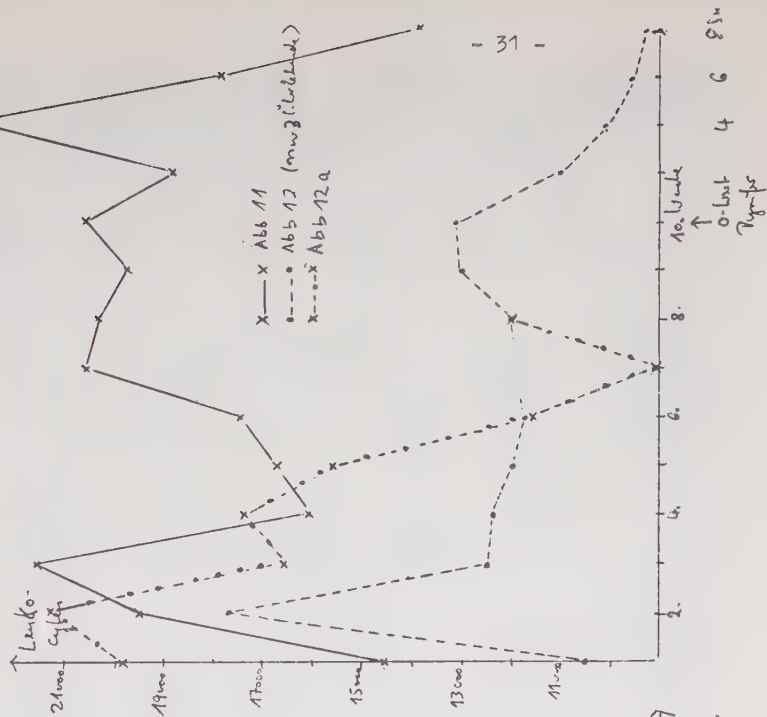
Tabelle 9

Wochenkurve mit 5 Ratten, getestet: 20 mg/kg SP-G p.o.

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Mittel	23 400	21 500	15 600	12 800	12 100	17 080
2. Tag	22 900	20 500	15 800	13 900	9 800	16 580
3. Tag	19 400	16 700	16 500	14 500	8 700	15 160
4. Tag	21 000	16 500	15 600	14 200	8 800	15 220
5. Tag	21 500	18 200	17 000	15 900	10 000	16 520
6. Tag	17 800	19 900	14 800	16 300	12 500	16 260
7. Tag	18n200	15 800	13 700	16 800	9 800	14 860
8. Tag						
=0-Wert						
Pyrifer	15 800	15 900	16 300	14 400	9 700	14 420
2. Std.	10 700	15 900	14 200	15 300	10 700	13 360
4. Std.	25 700	17 500	17 900	16 500	15 700	18 660
6. Std.	11 700	13 000	10 900	10 500	11 100	11 440
8. Std.	10 000	12 500	11 000	10 400	11 300	11 040

Wiederum durch Hef. 51-6 10.8. umschrieben 1937.

St. = St. d. Hef. 51-6 10.8. umschrieben 1937.

 $(Mc. 8, 9, 10a + b)$  $(122, 11, 12)$ 

5. Versuchsreihe - Diese Reihe umfaßte zwei Gruppen, eine mit 4 Tieren, die andere hatte 5 Ratten. Diese wurden täglich nach der Leukocytenkontrolle mit 25 mg/kg SP-G p.o. belastet. Am 8. Tag beschloß der Pyriferversuch - 2,5 E pro Tier - diesen Test.

Einen Überblick von diesen Ergebnissen verschaffen Tabelle 10 a und b.

Tabelle 10a

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
vor dem Mittel	16 200	13 000	20 000	10 900	15 250
2. Tag	12 800	11 900	17 400	14 900	16 750
3. Tag	17 700	8 900	10 900	10 700	12 500
4. Tag	17 400	15 400	16 100	11 900	15 200
5. Tag	11 700	11 700	15 400	10 100	12 225
6. Tag	11 700	13 700	13 300	17 900	14 150
7. Tag	7 600	9 500	10 300	13 500	10 225
8. Tag =0-Wert Pyrifer	13 200	9 800	8 400	11 400	10 700
2. Std.	14 500	11 800	10 600	8 600	11 375
4. Std.	17 100	18 200	9 200	10 000	13 575
6. Std.	10 700	11 100	11 500	14 200	11 875
8. Std.	8 600	10 400	8 600	12 200	10 950

Tabelle 10b

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Mittel	34 800	15 300	9 600	29 600	15 000	19 900
2. Tag	26 900	18 100	14 900	17 900	23 500	19 966
3. Tag	24 000	17b600	14 000	18 600	17 900	18 533
4. Tag	25 000	17 700	14 500	10 600	17 900	19 066
5. Tag	22 000	17 200	11 800	11 000	12 800	17 000
6. Tag	22 800	17 200	10 800	+	11 800	16 933
7. Tag	21 900	16 400	12 900	+	+	17 660
8. Tag =0-Wert Pyrifer	22 600	16 400	10 200	+	+	16 400
2. Std.	17 800	15 300	10 700	+	+	14 600
4. Std.	16 400	15 600	9 800	+	+	13 933
6. Std.	17 700	15 700	7 800	+	+	13 733
8. Std.	16 800	15 000	7 000	+	+	12 933

Zum Mittelwert wurden nur die Werte der Überlebenden verwendet.

6. Versuchsreihe - Anhang. Zwei Gruppen mit je 4 Tieren wurden mit überstarken Dosen - 40 mg/kg SP-G bzw. 50 mg/kg p.o. - behandelt. Einen Überblick von diesen Versuchen geben Tabelle 10c und 10d.

Tabelle 10c

40 mg/kg SP-G p.o. täglich an 4 Tieren getestet.

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
vor dem Mittel	16 800	15 900	17 500	16 300	16 625
2. Tag	15 400	21 000	21 800	14 100	18 075
3. Tag	16 400	25 400	21 800	20 000	20 900
4. Tag	18 000	+	+	17 000	17 500
5. Tag	19 900	+	+	+	(19 900)
6. Tag	+	+	+	+	-

Tabelle 10d

50 mg/kg SP-G p.o. täglich an 4 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
vor dem Mittel	11 500	15 100	10 000	14 400	12 750
2. Tag	10 500	14 700	7 600	13 600	11 600
3. Tag	14 300	11 700	9 700	21 600	14 325
4. Tag	14 100	18 300	9 800	+	14 060
5. Tag	14 100	10 300	+	+	12 200
6. Tag	13 300	+	+	+	13 300
7. Tag	+	+	+	+	-

Bei diesen Versuchen verendeten alle Tiere vor dem 8.Tag.

Serie D

Bei dieser letzten Serie der Gruppe I wurden zwei Versuchsreihen mit je 5 Tieren über eine Zeit von 9 Wochen täglich mit 3,5 mg/kg bzw. 8,5 mg/kg SP-G p.o. behandelt. Vor der ersten Zufuhr des Cytostatikums entnahm man von jedem Tier aus der Schwanzspitze etwas Blut zur Bestimmung des Ausgangswertes der Leukocytenzahl. Die Blutkörperchenkontrolle erfolgte hier aber wöchentlich nur einmal. Nach der 9.Woche beendete man diesen Versuch mit einer Knochenmarksprüfung. Jede Ratte erhielt 2,5 E Pyrifur intramuskulär in den Oberschenkel.

1. Versuchsreihe - Man fütterte 5 Tiere nach dem oben erwähnten Verfahren täglich mit 4,0 mg/kg SP-G p.o. 9 Wochen lang. Alle Tiere dieser Versuchsreihe überstanden diese Belastung. Die wöchentlichen Leukocytenwerte und die Pyriferkurve nach der 9. Woche erläutern Tabelle 11 und Abbild.11.

Tabelle 11

4,0 mg/kg SP-G p.o. bei 5 Tieren während 9 Wochen, täglich.

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Mittel	17 100	19 900	15 400	10 900	10 000	14 660
2. Woche	18 500	34 700	18 800	10 600	14 800	19 480
3. Woche	25 200	23 500	18 900	25 600	12 100	21 060
4. Woche	17 900	22 600	18 500	9 100	12 300	16 080
5. Woche	24 600	14 300	18 400	12 800	13 700	16 760
6. Woche	28 600	18 200	16 100	12 200	12 400	17 500
7. Woche	25 300	27 000	16 000	18 300	16 500	20 620
8. Woche	21 700	29 900	25 200	13 000	12 400	20 450
9. Woche	29 800	18 200	24 200	15 600	11 700	19 800
10. Woche						
=0-Wert						
Pyrifere	29 200	18 600	27 200	15 600	12 600	20 640
2. Std.	16 900	26 000	24 100	16 700	10 300	18 800
4. Std.	24 400	23 600	27 300	22 700	13 900	22 380
6. Std.	20 000	25 900	17 500	17 400	8 900	17 940
8. Std.	11 500	+	15 700	9 600	18 800	13 900

Ein Tier verlor man vor der 8. Stunde der Pyriferkurve.

2. Versuchsreihe - 5 Ratten spritzte man täglich 8,5 mg/kg SP-G p.o. langsam ein. Bei dieser neunwöchentlichen Versuchsdauer waren nur drei Überlebende zu zählen. Ein Tier starb schon nach der zweiten Woche, das andere verendete nach der vierten Woche.

Die wöchentlichen Leukocytenwerte und die Pyriferkurve am Ende des Versuches sind in Tabelle 12 und Abbildung 12 enthalten.

Als Mittelwert dieser Versuchsreihe wurden nur die Werte der drei Überlebenden dargestellt.

Tabelle 12

8,5 mg/kg SP-G p.o. täglich bei 5 Ratten 9 Wochen lang.

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Mittel	29 900	9 600	16 200	28 400	15 800	19 900
2. Woche	28 300	13 300	22 700	25 600	16 600	21 300
3. Woche	15 700	11 800	16 600	27 000	9 200	16 060
4. Woche	+	9 500	15 200	32 500	12 500	17 425
5. Woche	+	10 400	14 100	25 900	11 900	15 585
6. Woche	+	11 100	12 200	+	11 600	11 633
7. Woche	+	9 800	8 500	+	8 700	9 000
8. Woche	+	8 300	13 700	+	14 200	12 066
9. Woche	+	13 000	13 300	+	12 600	12 966
10. Woche =0-Wert						
Pyrifer	+	9 400	16 000	+	14 100	13 166
2. Std.	+	6 800	14 200	+	12 100	11 033
4. Std.	+	6 400	10 000	+	14 300	10 233
6. Std.	+	7 400	9 200	+	12 200	9 600
8. Std.	+	5 800	8 000	+	14 500	9 433

Die Mittelwerte bestehen aus den Zahlen der Überlebenden.

Gruppe II - Einmalige, massive Stöße mit verschiedenen hohen Dosierungen von SP-I bzw. SP-G.

Serie A

Auch hier wurden wieder zu Beginn die Leukocyten als Ausgangswert bestimmt. Daraufhin injizierte man jeder Gruppe unterschiedliche Dosen von SP-I i.v. in die Schwanzvene. Eine Ampulle SP-I = 1 ccm wurde mit physiol. NaCl-Lösung auf 50 ccm verdünnt und in dem Gewicht entsprechenden Mengen zugeführt.

Nach 24 Stunden zählte man erneut den Blutkörperchengehalt. Dieses ergab den Ausgangswert der folgenden Pyriferkurve. Das Fiebermittel wurde anschließend zu je 2,5 E in den Oberschenkel gespritzt. Während einer Zeitspanne von 8 Stunden war zweistündig die Leukocytenreaktion zu verfolgen.

1. Versuch - Eine Gruppe von 4 Tieren erhielt nach oben erwähntem Verfahren 5,7 mg/kg SP-I i.v. in die Schwanzvene appliziert. 24 Stunden später prüfte man die Knochenmarksfunktion mit Pyrifor. Das Ergebnis ist aus Tabelle 13 und Abbildung 13 ersichtlich.

Tabelle 13

5,7 mg/kg SP-I i.v. als Stoß bei 4 Ratten

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
vor dem Stoß	22 300	16 500	17 100	15 200	17 775
nach 24 Std.					
=0-Wert					
Pyrifer	12 100	15 000	7 700	11 000	11 450
2. Std.	17 600	17 100	15 600	14 600	16 225
4. Std.	23 400	17 000	22 700	10 800	18 475
6. Std.	28 400	13 500	13 700	9 500	11 275
8. Std.	19 800	14 800	12 900	10 200	14 425

2. Versuch - Nach dem gleichen Prinzip wurden 5 Tieren 11,4 mg/kg SP-I i.v. eingegeben. Den Versuchsverlauf und die Pyriforkurve erläutern Tabelle 14a und b und Abbildung 14 a und b.

Tabelle 14a

Stoß von 11,4 mg/kg SP-I intravenös bei 5 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	13 400	24 400	28 300	9 300	19 500	18 580
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyrifer	16 500	31 800	33 900	9 300	23 500	23 000
2. Std.	13 300	25 200	18 200	7 900	17 400	16 400
4. Std.	15 200	27 100	25 900	9 900	19 200	19 460
6. Std.	10 200	16 300	22 400	12 200	18 100	15 840
8. Std.	11 100	22 000	25 600	9 700	18 500	17 380

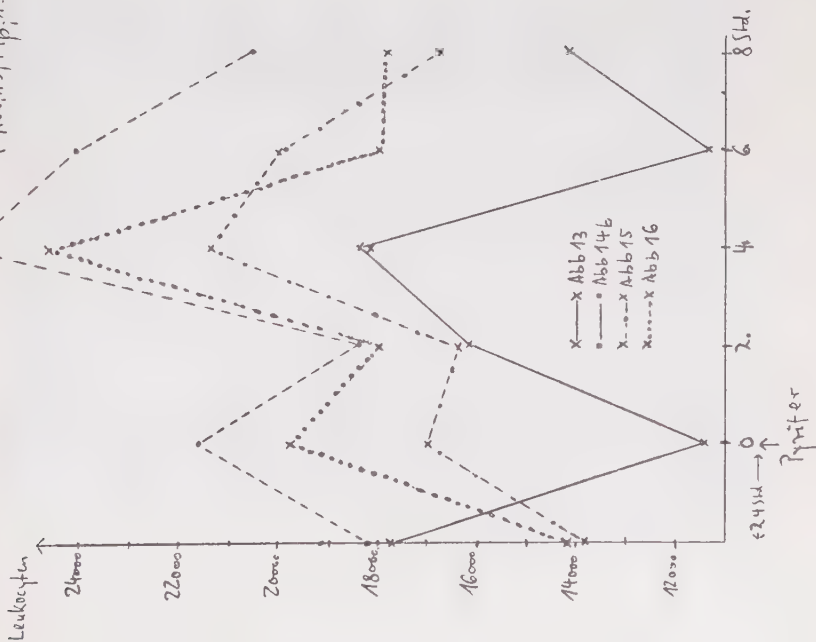
Tabelle 14b

Wiederholungsstoß von 11,4 mg/kg SP-I i.v. bei 5 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	21 200	10 500	16 100	24 400	18 900	18 220
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyrifer	16 800	14 900	20 700	36 400	19 800	21 720
2. Std.	17 400	9 400	16 700	32 600	15 700	18 360
4. Std.	22 800	15 300	26 100	38 600	29 600	26 480
6. Std.	19 900	17 800	24 100	31 800	27 100	24 140
8. Std.	15 400	16 100	21 500	28 400	21 600	20 600

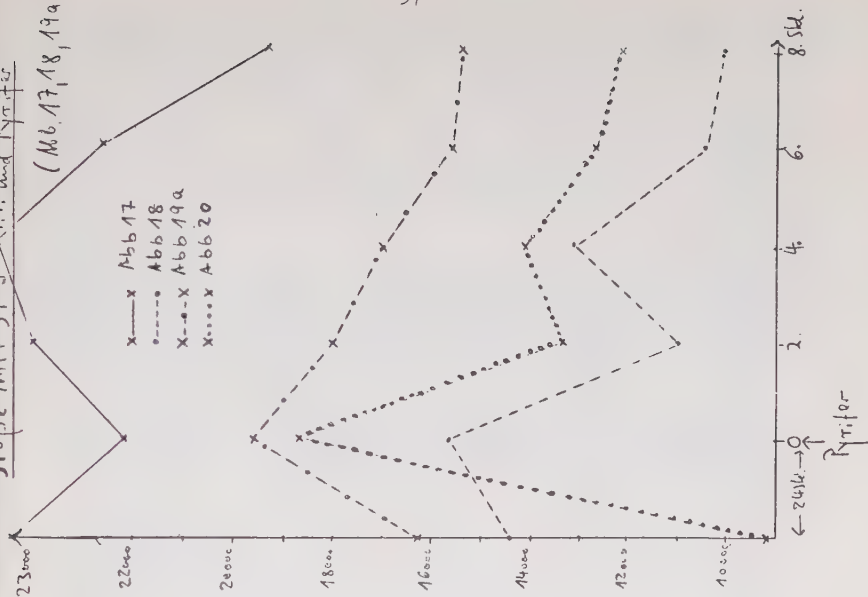
Stöße mit SP-J i.v. und Pyritur

(Nb, 13, 14, 15, 16)



Stöße mit SP-J i.v. und Pyritur

(Nb, 17, 18, 19, 20)



3. Versuch - 5 Tiere erhielten je 25 mg/kg SP-I i.v.
Eine Übersicht geben Tabelle 15 und Abbildung 15.

Tabelle 15

Stoß von 25 mg/kg SP-I i.v. mit 5 Ratten

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	11 500	11 100	24 400	10 900	11 700	13 920
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyripher	17 500	10 800	34 800	11 000	10 800	16 980
2. Std.	17 300	11 800	30 400	9 500	13 100	16 420
4. Std.	22 800	15 200	34 000	16 000	19 300	21 460
6. Std.	17 800	14 500	34 200	19 100	14 600	20 040
8. Std.	14 500	10 800	24 200	22 000	12 400	16 780

4. Versuch - Ebenso wurde eine Gruppe mit 5 Tieren mit
50 mg/kg SP-I i.v. behandelt.

Übersicht siehe Tabelle 16 und Abbildung 16.

Tabelle 16

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	11 200	19 600	16 000	13 900	10 200	14 180
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyripher	12 100	19 500	22 700	29 700	14 800	19 580
2. Std.	10 900	20 000	22 400	26 000	10 500	17 960
4. Std.	14 100	16 600	18 500	51 800	22 100	24 620
6. Std.	11 800	16 000	15 600	26 000	21 600	18 200
8. Std.	12 800	18 300	23 400	20 500	15 300	18 060

5. Versuch - Es wurden 80 mg/kg SP-I i.v. als Stoß an
5 Ratten getestet. Ergebnis siehe Tabelle 17 und
Abbildung 17.

Tabelle 17

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	19 400	11 500	18 500	25 500	42 500	23 480
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyripher	30 000	12 300	16 500	16 700	36 400	22 200
2. Std.	24 900	13 500	22 800	16 800	37 100	23 020
4. Std.	25 600	11 900	18 000	26 500	41 200	24 640
6. Std.	25 800	11 600	14 400	26 600	35 200	22 720
8. Std.	24 300	7 700	15 400	17 000	32 400	19 360

6. Versuch - An 5 Ratten werden 100 mg/kg SP-I i.v. erprobt. Die Werte und die graphischen Aufzeichnungen sind aus Tabelle 18 und Abbildung 18 zu entnehmen.

Tabelle 18

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	18 600	11 500	10 700	8 900	7 400	14 420
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyrifer	22 700	14 300	17 100	13 200	11 100	15 680
2. Std.	17 500	8 500	11 200	9 400	8 000	10 920
4. Std.	17 800	12 200	13 700	11 600	10 900	13 240
6. Std.	12 200	10 500	13 100	9 200	7 500	10 500
8. Std.	13 300	9 100	11 600	8 800	7 900	10 140

7. Versuch - 150 mg/kg SP-I i.v. wurde als Stoß an zwei Gruppen bewertet, eine umfaßte 5 Tiere, die andere nur vier. Tabelle 19a und b und Abbildung 19a und b vermitteln einen Überblick.

Tabelle 19a

150 mg/kg SP-I i.v. mit 5 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	10 600	21 300	12 100	22 800	14 300	16 220
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyrifer	14 900	22 600	23 600	24 700	12 000	19 560
2. Std.	14 400	18 500	15 200	25 200	16 700	18 000
4. Std.	9 900	20 700	14 400	28 200	11 600	16 960
6. Std.	10 300	17 200	13 700	24 400	12 300	15 580
8. Std.	9 900	15 000	+	24 700	12 300	15 475

Nach der 6.Stunde der Pyriferkurve verwendete Tier Nr.3

Tabelle 19b

Wiederholungsstoß von 150 mg/kg SP-I an 4 Tieren

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
vor dem Stoß	12 800	18 000	13 900	16 300	15 250
nach 24 Std.					
=0-Wert					
Pyrifer	26 800	16 700	16 200	28 200	19 475
2. Std.	13 800	15 000	14 300	14 000	14 225
4. Std.	25 700	14 200	17 700	13 100	17 675
6. Std.	26 700	14 700	18 800	17 400	19 400
8. Std.	25 600	16 500	19 100	14 000	19 275

8. Versuch - Schließlich wurden noch 4 Tiere mit einer Dosis von 200 mg/kg SP-I i.v. belastet. Der Leukocytenverlauf und die Pyriferkurve sind aus Tabelle 20 und Abbildung 20 zu ersehen.

Tabelle 20

An 4 Tieren 200 mg/kg SP-I i.v. als Stoß					
	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
vor dem Stoß	10 000	9 600	8 500	9 000	9 375
nach 24 Std.					
=0-Wert					
Pyrifer	22 400	13 500	17 700	21 600	18 800
2. Std.	18 300	14 800	10 000	12 600	13 925
4. Std.	20 100	10 300	8 100	18 100	14 150
6. Std.	19 400	10 100	8 700	13 000	12 800
8. Std.	18 100	12 400	8 000	10 400	12 225

Serie B

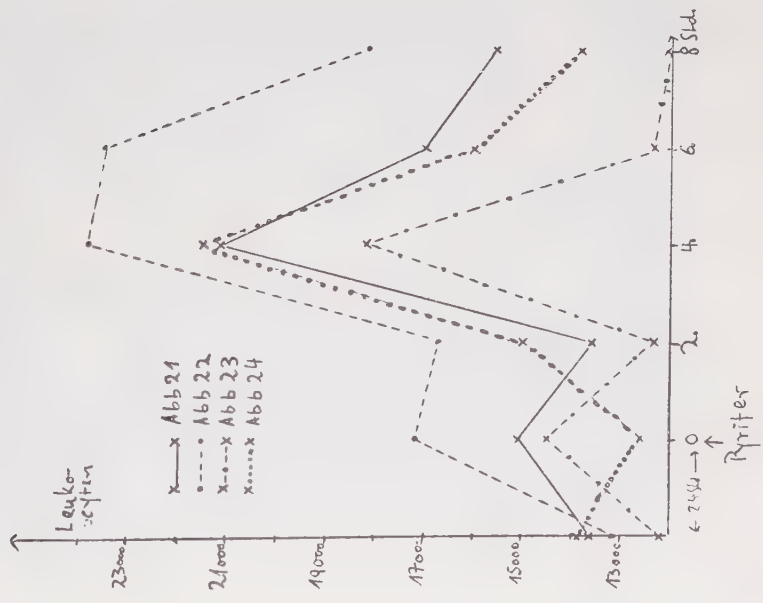
Diese Versuchsreihe sollte die Knochenmarksfunktion bei verschiedenen Stößen von SP-G p.o. ermitteln.

Es wurden wieder anfänglich die Leukocyten des peripheren Blutes ausgezählt und als Ausgangswert bestimmt. Daraufhin brachte man jeder Gruppe die gleichen Dosen, den einzelnen Versuchsreihen untereinander aber verschiedene Konzentrationen des Mittels SP-G ein. Die entsprechende Menge des Cytostatikums wurde in 5 ml einer 0,9 %igen NaCl-Lösung verdünnt und zu je einem Milliliter den Tieren durch eine Magensonde zugeführt.

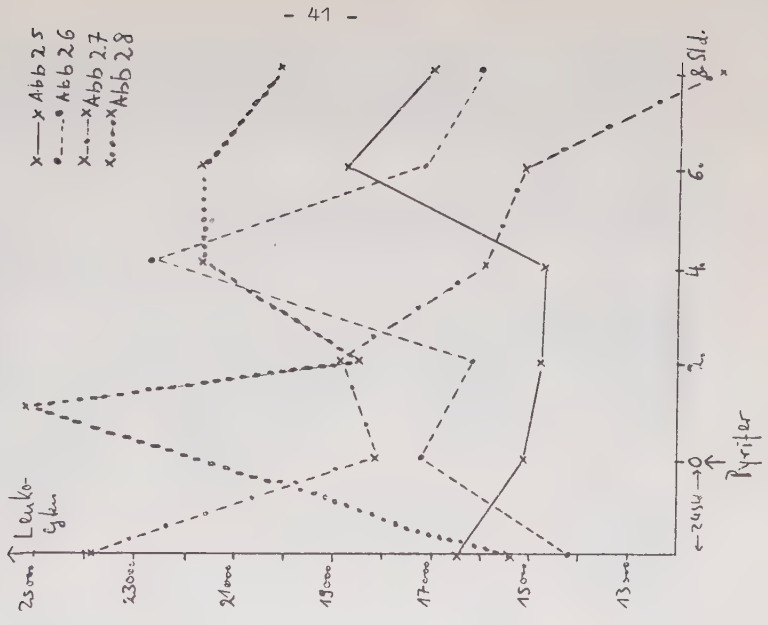
Nach 24 Stunden erfolgte eine weitere Leukozytenzählung. Dadurch konnte man die Wirkung des Medikamentes auf eine Zeit von 24 Stunden kontrollieren. Dieser Wert war gleichzeitig der Nullwert der anschließenden Reizkurve. 2,5 E Pyrififer intramuskulär gespritzt, ließ sich die Leukocytenreaktion zweistündlich während 8 Stunden verfolgen.

Die Zahlen der weißen Blutkörperchen der einzelnen Tiere und der Gruppen sind aus den Tabellen 21 - 28 zu entnehmen. Die dazugehörigen Abbildungen zeigen die Mittelwerte von den jeweiligen Tieren einer Gruppe. Im einzelnen wurden folgende Dosen verabreicht:

Stöße mit SP-G p.o. und Pyrit
(Abb. 21, 22, 23, 24)



Stöße mit SP-G p.o. und Pyrit
(Abb 25, 26, 27, 28)



1. Versuch - 2,85 mg/kg SP-G p.o. bei 5 Tieren. Ein Tier starb in der 2. Stunde der Pyriferkurve. Die Mittelwertskurve berücksichtigt diesen Ausfall. Ergebnis siehe Tabelle 21 und Abbildung 21.

Tabelle 21

5 Tiere mit 2,85 mg/kg SP-G p.o. belastet.

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	23 700	15 300	8 100	12 300	9 000	13 680
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyrifer	24 300	12 000	9 200	16 500	13 600	15 120
2. Std.	18 000	+	11 800	14 400	10 100	13 575
4. Std.	32 900	+	14 500	18 000	19 500	21 225
6. Std.	24 900	+	9 700	16 100	17 300	17 000
8. Std.	21 500	+	12 800	14 200	13 900	15 600

2. Versuch - 5,7 mg/kg SP-G p.o. als Stoß an 5 Tieren.
Ergebnis: Tabelle 22 und Abbildung 22.

Tabelle 22

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	11 200	19 600	9 400	14 300	10 600	13 030
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyrifer	16 900	18 500	12 300	15 100	13 800	17 320
2. Std.	16 200	28 900	13 200	14 400	11 500	16 840
4. Std.	21 000	37 700	12 800	22 100	25 800	23 880
6. Std.	22 900	50 200	14 100	15 100	15 500	23 560
8. Std.	16 700	38 400	11 400	14 500	10 400	18 280

3. Versuch - 10 mg/kg SP-G p.o. an 5 Ratten. Die Leukozytenwerte und die Pyriferkurve erläutern Tabelle 23 und Abbildung 23.

Tabelle 23

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	11 100	11 700	12 900	16 600	9 500	12 360
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyrifer	14 800	17 400	13 800	17 400	9 200	14 520
2. Std.	9 900	19 200	13 600	14 600	8 800	13 220
4. Std.	18 600	20 400	19 900	13 400	18 800	18 220
6. Std.	11 900	14 700	14 600	11 100	9 900	12 440
8. Std.	15 500	15 500	10 500	9 900	6 400	11 560

4. Versuch - 25 mg/kg SP-G p.o. bei 5 Tieren. Eine Übersicht verschaffen Tabelle 24 und Abbildung 24.

Tabelle 24

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	14 600	15 200	11 800	11 700	16 300	13 920
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyripher	15 300	12 800	9 200	9 500	16 200	12 600
2. Std.	20 800	13 800	8 500	14 800	17 000	14 980
4. Std.	31 100	15 900	12 700	23 100	22 400	21 400
6. Std.	26 300	16 600	7 200	12 100	17 100	15 980
8. Std.	21 400	15 300	7 000	10 100	15 700	13 900

5. Versuch - 40 mg/kg SP-G p.o. bei 5 Tieren. Siehe Tabelle 25 und Abbildung 25

Tabelle 25

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	9 800	36 000	12 500	11 700	12 700	16 540
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyripher	10 100	30 900	10 900	8 800	15 300	15 200
2. Std.	14 800	23 800	11 900	12 000	11 300	14 760
4. Std.	16 900	36 800	16 500	18 200	13 200	14 760
6. Std.	19 500	30 200	13 800	16 200	14 400	18 820
8. Std.	14 900	32 000	10 600	14 100	13 400	17 000

6. Versuch - 50 mg/kg SP-G p.o. bei 5 Ratten. Einen Überblick geben Tabelle 26 und Abbildung 26.

Tabelle 26

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	10 100	15 500	13 800	14 700	16 700	14 160
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyripher	26 800	20 400	23 900	11 600	13 900	17 320
2. Std.	20 200	15 400	17 700	11 900	15 900	16 220
4. Std.	33 400	18 100	18 700	13 000	25 900	21 820
6. Std.	18 900	18 200	16 400	13 500	18 800	17 160
8. Std.	15 000	16 400	17 900	12 700	18 200	16 040

7. Versuch - 75 mg/kg SP-G p.o. stoßweise mit 4 Tieren. Die Werte sind in Tabelle 27 und die Kurve in Abbildung 27 festgehalten.

Tabelle 27

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	M.W.
vor dem Stoß	10 000	36 300	13 700	35 700	23 925
nach 24 Std.					
=0-Wert					
Pyrifer	9 600	25 400	13 700	34 600	18 325
2. Std.	12 100	19 900	13 100	30 500	18 900
4. Std.	8 700	20 500	13 100	21 500	15 950
6. Std.	10 400	19 300	11 300	21 400	15 600
8. Std.	8 100	15 600	9 500	11 300	11 125

8. Versuch - 100 mg/kg SP-G p.o. an 5 Tieren geprüft. Eine Ratte verendete während der ersten 24 Stunden. Die Werte und Kurve sind in Tabelle bzw. in Abbildung 28 dargestellt.

Tabelle 28

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	25 300	13 800	12 500	13 200	12 300	15 420
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyrifer	36 000	+	14 200	23 200	23 800	24 300
2. Std.	29 600	+	16 400	13 600	14 500	18 525
4. Std.	30 800	+	22 000	13 600	19 800	21 550
6. Std.	32 300	+	22 000	12 600	19 600	21 625
8. Std.	29 000	+	24 700	9 600	19 900	20 800

Gruppe III - Regenerationsprüfung des Knochenmarkes der Ratte nach stoßweiser, hoher Belastung mit SP-G p.o.

Serie A

Bei dieser Versuchsgruppe ging ich der Frage nach, wie reagiert das Knochenmark auf eine zweite Pyriferreizung 8 Tage nach einem einmaligen Stoß mit verschiedenen Dosen von SP-G?

Der Versuchsvorgang war derselbe wie bei den Stößen mit SP-G p.o. Nach der anfänglichen quantitativen Leukocytenbestimmung fütterte man die Tiere mit entsprechenden Konzentrationen des in 5 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung verdünnten Medikaments. An eine 24-stündige Pause schloß sich die Pyriferreizung mit 2,5 E an. Die leukocytaire Reaktion verfolgte man in der 2., 4., 6. und 8. Stunde.

Die Tiere wurden nun eine Woche lang beobachtet, und am 8. Tag erfolgte eine zweite Belastung mit derselben Einheit Pyrifer.

Folgende Dosen SP-G wurden so einzeln geprüft:

1. Versuch - 40 mg/kg SP-G an 5 Tieren.

Tabelle 29 und Abbildung 29 geben darüber Auskunft.

Tabelle 29

40 mg/kg SP-G als Stoß an 5 Tieren; 4 Tiere Wiederholungskurve.

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	10 500	13 900	9 400	11 800	14 200	11 960
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyripher	10 700	19 600	7 700	11 200	19 800	13 800
2. Std.	13 400	19 800	8 500	9 200	16 400	13 460
4. Std.	11 600	21 900	13 100	9 700	14 800	14 220
6. Std.	9 700	16 400	8 100	7 400	12 600	10 840
8. Std.	9 100	16 000	8 000	6 700	12 700	10 500
nach 8 Tagen						
= 2.Pyripher						
0-Wert	10 600	8 400	7 900	21 000	+	11 975
2. Std.	9 200	9 900	9 800	19 800	+	12 175
4. Std.	10 400	11 300	7 000	16 800	+	11 375
6. Std.	7 900	11 400	9 800	12 700	+	10 450
8. Std.	7 200	10 900	10 100	12 300	+	10 125

2. Versuch - 50 mg/kg SP-G p.o. an 5 Ratten. Einen Überblick geben Tabelle 30 und Abbildung 30.

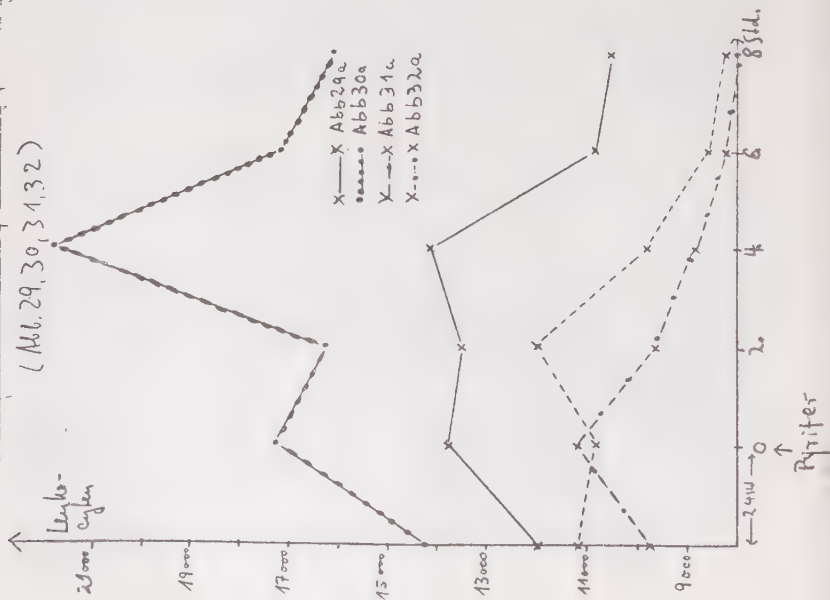
Tabelle 30

50 mg/kg SP-G als Stoß mit 5 Tieren; wiederholt an drei Überlebenden nach 8 Tagen.

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	10 100	15 500	13 800	14 700	16 700	14 160
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyripher	26 800	20 400	23 900	11 600	13 900	17 320
2. Std.	20 200	15 400	17 700	11 900	15 900	16 220
4. Std.	33 400	18 100	18 700	13 000	25 900	21 820
6. Std.	18 900	18 200	16 400	13 500	18 880	17 160
8. Std.	15 000	16 400	17 900	12 700	18 200	16 040
nach 8 Tagen						
= 2.Pyripher						
0-Wert	16 000	20 600	+	25 000	+	20 520
2. Std.	14 200	12 600	+	19 100	+	15 300
4. Std.	11 700	20 200	+	21 600	+	17 760
6. Std.	8 700	17 400	+	19 400	+	15 160
8. Std.	11 600	12 100	+	14 900	+	12 860

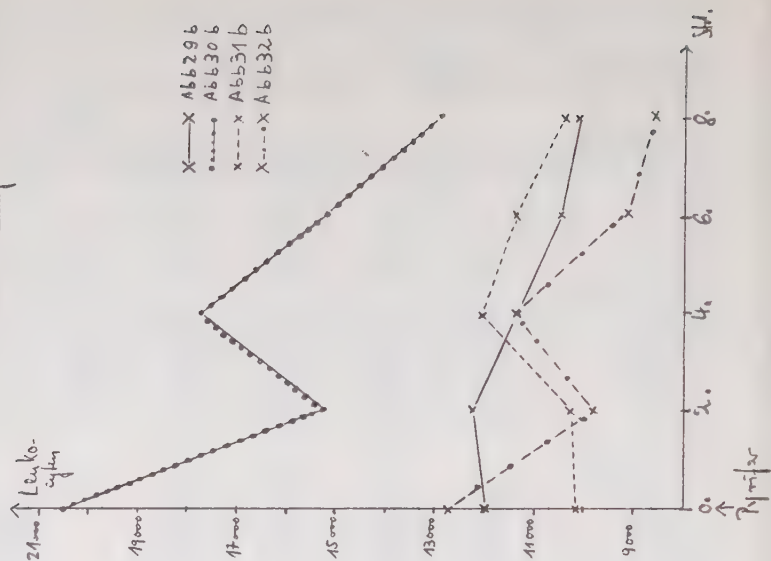
Stöße mit SP-6, 2. und 3. und Pyrit (Reflexionskurvenlauf)

(Abb. 29, 30, 31, 32)



Pyritwiederkunft

am 8. Tag (Abb. 29b, 30b, 31b, 32b)



3. Versuch - 75 mg/kg SP-G p.o. als Stoß an 5 Tieren;
2. Pyriferkurve am 8. Tag. Die Werte und Kurve sind in
Tabelle 31 und Abbildung 31 eingetragen.

Tabelle 31

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	9 900	8 900	15 700	10 000	10 600	11 020
nach 24 Std. =0-Wert						
Pyrifer	9 900	12 500	12 600	9 900	8 600	10 700
2. Std.	9 000	15 700	15 700	10 800	8 700	11 980
4. Std.	7 800	9 300	11 300	11 900	9 000	9 860
6. Std.	7 600	9 000	11 100	7 600	7 600	8 580
8. Std.	7 000	8 700	11 000	6 900	7 100	8 140
nach 8 Tagen = 2. Pyrifer						
=0-Wert	11 900	10 000	13 100	8 800	6 900	10 140
2. Std.	9 600	12 800	14 800	7 700	6 700	10 320
4. Std.	9 200	13 600	17 900	12 000	7 300	12 000
6. Std.	8 100	15 900	15 400	10 400	7 100	11 380
8. Std.	7 600	14 500	15 300	8 400	6 100	10 380

4. Versuch - 100 mg/kg SP-G p.o. wurden stoßweise 5 Ratten
zugeführt. Ein Tier verendete während der ersten 24 Stunden.
Die Ratte Nr.5 ging am zweiten Tag nach dem Stoß zugrunde.
Am 8. Tag wiederholte man die Pyriferinjektion an den 3
letzten Tieren. Die Ergebnisse und Kurven sind in Tabelle
32 und in Abbildung 32 dargelegt.

Tabelle 32

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	8 400	14 700	10 300	8 300	7 500	9 840
nach 24 Std. =0-Wert						
Pyrifer	16 800	12 100	+	8 000	8 300	11 300
2. Std.	11 200	8 700	+	8 100	8 900	9 725
4. Std.	11 700	8 900	+	9 100	8 100	9 450
6. Std.	10 000	8 000	+	9 500	5 800	8 325
8. Std.	9 100	8 100	+	9 200	4 900	7 825
nach 8 Tagen = 2. Pyrifer						
=0-Wert	9 300	15 500	+	13 700	+	12 833
2. Std.	8 900	9 100	+	11 200	+	9 733
4. Std.	9 600	12 100	+	12 300	+	11 330
6. Std.	6 900	12 400	+	8 300	+	9 200
8. Std.	6 100	12 000	+	7 900	+	8 660

5. Versuch - 150 mg/kg SP-I i.v. wurden stoßweise 5 Ratten zugeführt. Am 8. Tag wiederholte man die Injektion von 2,5 E Pyrifer an den 4 Überlebenden. Werte und Abbildung siehe Tabelle 33.

Tabelle 33

	Nr.1	Nr.2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	M.W.
vor dem Stoß	10 600	21 300	12 100	22 800	14 300	16 220
nach 24 Std.						
=0-Wert						
Pyrifer	14 900	22 600	23 600	24 700	12 000	19 560
2. Std.	14 400	18 500	15 200	25 200	16 700	18 000
4. Std.	9 900	20 700	14 400	28 200	11 600	16 960
6. Std.	10 300	17 200	13 700	24 400	12 300	15 580
8. Std.	9 900	15 000	+	24 700	12 300	15 475
nach 8 Tagen						
= 2.Pyrifer						
0-Wert	16 500	31 300	+	39 150	12 500	24 850
2. Std.	18 200	18 000	+	30 400	27 900	18 625
4. Std.	22 500	32 400	+	35 600	9 900	24 850
6. Std.	15 800	23 400	+	33 600	9 300	20 425
8. Std.	14 000	21 800	+	20 600	7 800	16 300

D i s k u s s i o n

Vorversuche

Serie A

Das Ziel dieser Serie A ist es, an unbehandelten Ratten im Leerversuch die Leukocyten zu kontrollieren. Der Versuch 1 soll während einer Versuchsdauer von 8 Stunden Auskunft über eventuelle Tagesschwankungen in der Leukocytenzahl geben. Wie aus Tabelle I hervorgeht, zeigen alle 4 Tiere nur geringe Schwankungen, und der Mittelwert differiert nur maximal um 600 Zellen. Es kann somit aus diesem Ergebnis gefolgert werden, daß es bei den Ratten zu keinen nennenswerten Verschiebungen im weißen Blutbild während der Versuchsdauer von 8 Stunden und durch die Verletzungen kommt.

Im wesentlichen dasselbe Bild zeigt auch der Versuch Nr.2. Die Werte sind in Tabelle II eingetragen. Die intravenöse Injektion von 1 ccm physiol. NaCl-Lösung besitzt keine Wirkung auf die periphere Leukocytenzahl. Der Mittelwert der 4 Probanden schwankt nur geringfügig.

Eine Beeinträchtigung der leukocyitären Reaktion durch den Tagesrhythmus, durch die Dekubationsverletzungen und durch die Injektionen von NaCl-Lösungen i.v. kann demnach bei den weiteren Versuchen außer acht gelassen werden.

Serie B

Diese Versuche umfassen 20 Tiere mit 4 Gruppen. Es werden hier verschiedene Dosen Pyrifer (1; 2,5; 3,5) nach dem Verfahren von Moeschlin geprüft. In drei Versuchen werden hohe, mittlere und niedrige Dosen getestet. Wie aus Tabelle III und V hervorgeht, zeigen die extremen Mengen keine typischen Kurven mehr.

1 E Pyrifer ist zu gering, um eine Leukocytenbewegung im peripheren Blut zu provozieren. Der unspezifische Reiz auf die vegetativen Zentren bewirkt nach einem Abfall in der zweiten Stunde nur einen geringen Anstieg bis zum Ausgangswert in der 4. Stunde (Tabelle III). Aber auch bei sehr

hohen Mengen (5 E Pyrifer) erkennt man keine charakteristische Kurve. Der maximale Gipfel in Tabelle V zur 4. Stunde liegt mit rund 2 000 Zellen nicht wesentlich über dem Ausgangswert.

Anders sind die Verhältnisse beim Versuch Nr. 2 mit mittleren Einheiten Pyrifer. Der optimale Kurvenverlauf zeigt sich hier bei einer Injektion von 2,5 E, wie Tabelle IV a und Abbildung IV a demonstrieren. Man sieht das typische Bild der "vegetativen Gesamtumschaltung", wie HOFF^{39,40,41} sagt. Nach einer Belastung des Organismus mit einem unspezifischen Reizstoff, hier Pyrifer, kommt es zu veränderten vegetativen Reaktionen. Neben einer Beeinflussung des Temperaturzentrums entstehen Variationen im Blutzuckerspiegel und in der allgemeinen Stoffwechselbilanz. Besonders ausgeprägt ist aber die Wirkung auf die Leukocytenbewegung im peripheren Blut. An Hand dieser Leukocytenkurve sind 3 verschiedene Phasen zu trennen. Während der ersten 2 Stunden nach der Pyriferinjektion kommt es gelegentlich zu einem leichten Sturz der weißen Blutkörperchen. HOFF spricht von der "Schockphase" oder der "vagotonen Vorphase" der vegetativen Gesamtumschaltung. Bis zur 4. Stunde steigen nun diese Elemente durchschnittlich um 4 - 7 000 Zellen an. Dieses ist die "ergotrope Phase", die reaktive Leukocytose auf den belastenden Reiz hin. Dieser Wert ist insofern keine absolute Größe, als die Ausschwemmung um so größer ist, je niedriger der Ausgangswert liegt (Wildersche Ausgangsregel). In den nächsten 4 Stunden sinken wieder die Leukocyten regelmäßig ab. Mit dieser "vagotonen Schlußphase" ist mit der 8. Stunde das ganze Spektrum der vegetativen Reaktionen abgeschlossen. Dieser sehr charakteristische Kurvenverlauf tritt aber nur bei einem funktionsfähigen Knochenmark auf. Auf Grund dieser physiologischen Umschaltung benutzte Moeschlin unspezifische Reizstoffe, um die Knochenmarksfunktion allein aus der Kontrolle des peripheren Blutbildes zu prüfen. Wie die Ergebnisse von ERHARDT, FISCHER²⁶, KRATSCH⁵⁶ u.a. zeigen, fehlt bei ausgeprägten Panmyelophthisen oder sonstigen Knochenmarksschädigungen diese normale leukocytaire Reaktion. Tabelle IV b und Abbildung IV b erläutern die Wirkung von 3 E Pyrifer. Auch bei diesem Versuch tritt in der 4. Stunde

eine Leukocytose von 7 000 Zellen über dem Null-Punkt auf. Der Anstieg setzt aber hier schon in der 2. Stunde ein. Es scheint, als überlagere die ergotrope Phase bei diesem größeren Reiz die senkende Wirkung des ersten Schockstadiums. In der 4. Stunde schließt sich auch hier die vagotone Endphase an, und die Leukocyten kehren zur Norm zurück. Als optimale Reizkurve erscheint mir diejenige nach einer Dosis von 2,5 E Pyrifer zu sein. Für die folgenden Knochenmarksprüfungen werden deswegen bei allen Versuchen 2,5 E Pyrifer injiziert.

Hauptversuche

Die Dauerbelastungen mit SP-I bzw. SP-G werden in Gruppe I geprüft. Diese umfassen insgesamt 82 Tiere. Im einzelnen aufgeteilt, wurden 18 Tiere bei den SP-I Wochenkurven benutzt, 41 Ratten bei den SP-G Wochenkurven, 10 Tiere für die SP-G-Belastung von 63 Tagen, und schließlich 15 Tiere zur Kontrolle verwendet. Bei diesen Untersuchungen soll die Knochenmarksfunktion nach einer täglichen Gabe während einer Woche von verschiedenen hohen Dosen SP-I bzw. SP-G geprüft werden. Es ist die Frage zu klären, ob sich die Leukocyten im Kapillarblut in dieser Zeitspanne vermindern, und ob die Knochenmarksfunktion am 8. Tag durch eventuelle Blockierung eine dysregulative Leukopenie zeigt. Neben der Frage der qualitativen Einwirkung auf die Leukopoese soll aber auch eine Antwort auf die notwendige, quantitative Dosis gesucht werden.

In Serie A testet man nun das Cytostatikum SP-I, intravenös in die Schwanzvene injiziert. Die Werte sind in Tabelle 1 und 2 und in den entsprechenden Abbildungen aufgezeichnet. Zur Dauerbehandlung bei Patienten werden von STAMM⁷⁵, HUBACHER^{47,48}, EMMENEGGER²⁴ 400 mg die SP-I angegeben.

Bei einem Durchschnittsgewicht von 70 kg Körpergewicht pro Mensch entspricht dieses einer Dosis von 5,7 mg/kg. Als Dauerdosierung begann ich bei den Ratten von ca. 250 g, täglich eine Menge von 1,4 mg SP-I zu applizieren. Diese Dosis prüfte man an zwei verschiedenen Gruppen. Insgesamt wurden demnach jeder Serie $7 \times 5,7 \text{ mg/kg} = \text{ca. } 40 \text{ mg/kg}$ SP-I zugeführt. Die Abbildungen 1 a und 1 b demonstrieren diese

Kurvenbilder. Es kommt zu einem leukocyitären Anstieg konstant bis zum 3. Tag. In Abbildung 1 a verdoppelt sich fast die periphere Leukocytenzahl auf 20 000 Zellen, um sich dann unter leichtem Schwanken plateauartig weiter zu bewegen. Unter der Pyriferbelastung am 8. Tag kommt es in der zweiten Stunde zu einem schlagartigen Sinken der weißen Blutkörperchen bis auf den Ausgangswert. Aber in der 4. Stunde entsteht nur noch ein minimaler Anstieg um 1 000 Zellen. Das Ergebnis dieses Versuches ist zu überraschend, um es kritiklos hinzunehmen. Auch der Wiederholungsversuch von 5,7 mg/kg SP-I i.v. zeigt einen ähnlichen Verlauf. Hier nimmt die Leukocytenzahl um 3 000 bis zum 3. Tag zu. In den folgenden Tagen kehrt das weiße Blutbild zur Norm zurück. Doch die Reizkurve am Ende des Versuches verläuft hier völlig refraktär. Ja, sie zeigt sogar einen eigenartigen Abfall von 2 000 Leukocyten in der 6. Stunde. Bei diesen ersten Versuchen erhebt sich die Frage, liegt hier eine spezifische, hemmende Wirkung des Cytostatikums auf das Knochenmark vor oder ist es nur eine unspezifische Erschöpfung. Um diesem Problem näher zu kommen, injizierte man die doppelte Menge SP-I, nämlich 11,4 mg/kg täglich 7 Tage lang, zusammen also ca. 80 mg/kg SP-I. Auch diese Kurve (Abbildung 2 a) weist einen Anstieg bis zum 3. Tag von 6 500 Zellen auf, um dann nach einem leichten Abfall der Leukocyten ein rapides Verschwinden der weißen Blutelemente unter dem Pyriferreiz bis zur 6. Stunde zu offenbaren. Erst in den nächsten 4 Stunden normalisiert sich das Blutbild wieder, indem die Leukocyten um 3 000 Zellen zunehmen und so schließlich den Nullwert der Pyriferkurve erreichen. Auch diesen Versuch wiederholte man unter den gleichen Bedingungen. In Abbildung 2 b ist der Kurvenverlauf etwas unruhiger, dafür aber die Pyriferkurve recht charakteristisch. Während es am 2. Tag zu einer Zunahme der weißen Blutzellen von 3 000 kommt, sinken sie am 3. Tag wieder um 2 000 ab. In den folgenden Auszählungen ist dem hingegen ein Anstieg festzustellen, der am letzten Tag aber auf den Ausgangswert zurückkehrt. Die Pyriferkurve geht also praktisch vom Ausgangswert des ersten Versuchstages aus. Die Leukocytenkurve zeigt in den ersten 2 Stunden das Bild der

vagotonen Schockphase. Ihre Zahl sinkt um 1 500, während sie in der 4. Stunde mit einem Anstieg von 3 000 Zellen über dem Ausgangspunkt liegt. Es erscheint also eine ergotrope Phase, die sich zwar in ihrem quantitativen Gehalt unter der Norm bewegt, aber dennoch auf eine leukocytaire Ausschweifungsfähigkeit hinweist. Wenn bei einer täglichen Belastung mit der doppelten Menge im Wiederholungsversuch noch ein reaktionsfähiges Knochenmark vorliegt, so verdichtet sich der Verdacht, daß bei den vorhergegangenen Untersuchungen mit geringeren Dosen eine unspezifische Erschöpfung ursächlich wurde.

Hierzu bietet sich folgende Erklärung:

Trotz der Verdünnung im Verhältnis 1 : 50 mit physiologischen NaCl-Lösung kam es bei der intravenösen Injektion von SP-I recht bald zu Thrombosen. Außer der erhöhten Infektionsgefahr bedingen diese besondere Schwierigkeiten bei der Injektion. Die Folgen sind bald auftretende Nekrosen. Der Gedanke liegt nahe, daß durch diese unspezifischen Belastungen, Infektion und Nekrose, nach vorübergehender Leukocytose, es zur Erschöpfung des leukopoetischen Systems kommt. BORKENSTEIN⁵ bewies nämlich schon früher nach längeren Infektionszuständen eine besondere Erschöpfung der Leukopoese.

Abschließend ergibt sich demnach für die Versuche der Gruppe I A eine reaktive Leukocytose während der täglichen Injektionen, die vermutlich durch unspezifische, infektiöse Reize bedingt wird. Bei der Pyrikerbelastung sieht man eine verzögerte oder nur schwache Leukocytenbewegung. Hierfür wird viel eher eine gewisse Erschöpfung des leukopoetischen Systems durch die länger dauernden Infektionszustände verantwortlich gemacht, als eine direkte, hemmende Wirkung des Cytostatikums SP-I auf das Knochenmark.

Im nächsten Abschnitt, Gruppe I B, werden in einzelnen Schritten den Fehlermöglichkeiten der Versuchsserie A nachgegangen. Man versucht, den Beweis für die unspezifische Erschöpfung des Knochenmarks zu bringen. Die Ergebnisse erläutern die Abbildungen 3, 4 und 5. Bei diesen Versuchen werden keine Cytostatika gegeben. Vielmehr prüft man das weiße Blutbild und die Knochenmarksreaktion nach einer täg-

lichen Dekubation an der Schwanzspitze (Abb.3), in Abbildung 4 nach täglichen intravenösen Injektionen von physiol. NaCl-Lösung und schließlich nach paravenöser Verabreichung von Kochsalzlösung in Abbildung 5. Tabelle 3 und Abbildung 3 bringen die Werte des ersten Versuchs, der täglichen Dekubation. Die Leukocytenkurve bewegt sich während dieser Versuchswoche nur geringfügig mit einer maximalen Differenz von 1 000 Leukocyten vom Ausgangswert. Nach einem leichten Anstieg bis zum 5. Tag kommt es zur Rückkehr auf den Nullpunkt. Die anschließende Pyripherreizkurve zeigt einen normalen Anstieg mit 4 000 Zellen in der 4. Stunde. Die täglichen Läsionen beeinflussen demnach nicht die Leukocytenzahl, weder im peripheren Blut, noch ihre Mobilisation aus dem Knochenmark. Bei den Injektionen von physiol. NaCl in die Schwanzvene kommt es in Abbildung 4 zu einer schwachen Zunahme der Blutkörperchen und zu einem Abfall nach dem 3. Tag um 2 000 Zellen unter den Ausgangswert. Während man aus der Wochenkurve eine gewisse Irregularität ablesen könnte, zeigt aber die Pyriferbelastung eine gute Knochenmarksfunktion mit einer kräftigen Leukocytose von 6 500 Zellen Zuwachs in der 4. Stunde. Ein völlig anderes Bild sieht man dem hingegen bei der bewußten paravenösen Injektion von Kochsalzlösung. Es entstehen während der Versuchsdauer heftige Infektionen, die auch durch eine beträchtliche Leukocytose von 13 500 auf 22 000 begleitet werden. Ab dem 4. Tag ist eine rückläufige Leukocytenbewegung erkenntlich. Die Pyriferbelastungskurve erweist sich aber als völlig refraktär und setzt fast kontinuierlich den Leukocytensturz bis unter den Ausgangswert vom 1. Tag hin fort. Hier wird also eindeutig eine Erschöpfung der Leukocytenmobilisation offenbar. Somit sind die Ergebnisse von BORKENSTEIN⁵ erneut bestätigt. Nach einer länger dauernden Leukocytose erweist sich das Knochenmark nicht mehr fähig, einen neuen Belastungsreiz mit der erwarteten ergotropen Ausschwemmungsphase zu beantworten. Weiter sagt diese Versuchsserie aus, daß die Leukocytose bei den Versuchen der Gruppe I A mit SP-I i.v. auf unspezifische Reize zurückzuführen ist. Die refraktären Pyriferkurven bei den SP-I-Wochenbelastungen sind demnach nicht auf eine spezifische zytotoxische Wirkung der Podophyllinderivate

zu beziehen. Über deren Begleiterscheinungen auf das Knochenmark kann somit aus diesen bisherigen Versuchen keine stichhaltige Aussage gemacht werden. Um Infektionen und Nekrosen weitmöglichst an den Versuchstieren auszuschalten, benutzt man die Möglichkeit der peroralen Applikation.

In der Versuchsserie I C wurde nun das lösliche Cytostatikum SP-G mittels einer Magensonde verabreicht. Die fraktionierten Dosen variieren von 2,85 mg/kg bis zu 50 mg/kg SP-G täglich. Hiermit soll nun die offene Frage der qualitativen und der quantitativen Einwirkungen der Podophyllinderivate auf die Leukocytenzahl und deren Mobilisation beantwortet werden. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 6 bis 11 und den entsprechenden Abbildungen enthalten. Den individuellen Gegebenheiten entsprechend, empfiehlt EMMENEGGER²⁴ zur Dauerbehandlung in der Klinik 150 - 300 mg SP-G pro die. Bei meinen Versuchen wurde von 200 mg SP-G ausgegangen, das sind 2,85 mg/kg Körpergewicht. Abbildung 6 demonstriert graphisch das Ergebnis. Zusammen wurden also während der Versuchszeit ca. 20 mg/kg SP-G zugeführt. Im ersten Drittel der Versuchswoche stiegen die Leukocyten um rund 3 000 Zellen an, um am 8. Tag wieder am Ausgangswert zu liegen. Die Pyripherbelastung bewirkt eine kräftige Leukocytose von 4 000 Zellen Zuwachs. Versuche mit 5,7 mg/kg täglich, zusammen also ca. 40 mg/kg und mit 11,4 mg/kg SP-G, zusammen ca. 80 mg/kg, zeigen im wesentlichen dieselben Kurven. Auch hier erscheint anfangs eine Leukocytose, die sich aber langsam bis zum 8. Tag zurückbildet. Trotz dieser reaktiven Leukocytenausschwemmung kommt es in Abbildung 7b bei 5,7 mg/kg SP-G täglich nicht zu einer Beeinträchtigung der Leukocytenmobilisation. Hier, wie auch nach einer Behandlung mit 11,4 mg/kg pro die, also summerisch 80 mg/kg, reagiert das Knochenmark mit einer eindeutigen ergotropen Phase der weißen Blutkörperchen. Nach einem ausgeprägten Leukocytensturz in der vagotonen Schockphase (Abbildung 7b) liegt die Leukocytose mit 3 000 Zellen über dem Null-Wert. Noch stärker imponiert die Ausschwemmung auf den Pyriferreiz in Abbildung 8 nach einer täglichen Applikation von 11,4 mg/kg SP-G (entsprechend 800 mg pro Tag beim Patienten).

Ungeachtet der relativ hohen Dosis steigen die Leukocyten bis in der 4. Stunde um 6 000 Zellen an. Von einer Blockierung der Leukopoese kann demnach nicht die Rede sein. Während der Zeitspanne von einer Woche kann also für diese therapeutische Dosis keine schädigende Nebenwirkung auf das Knochenmark festgestellt werden. Nur wie erklärt sich die anfängliche Leukocytose bei diesen Versuchen? Ein Vergleich mit Abbildung 3 zeigt den offensichtlich unbedeutenden Einfluß der Dekubationsverletzungen auf das periphere Blutbild. Somit bietet sich nur noch die Alternative, entweder, es handelt sich hierbei um eine reaktive Leukocytose auf einen unbekannten Behandlungsstress, oder es zeigt sich hier eine vorübergehende leukocytotische Wirkung des Cytostatikums selber. Abbildung 9 mit einer Behandlungsdosis von 20 mg/kg SP-G pro die unterscheidet sich nur in der täglichen Leukocytenkontrolle von den vorherigen Kurven. Die Ergebnisse der Prüfung von 20 mg/kg, das bedeuten 1 400 mg die für den Menschen, sind in Abbildung 9 dargestellt. Hier bewegen sich die Leukocyten nicht wesentlich, vielmehr scheinen sie während der Behandlungswoche keine steigenden Tendenzen zu besitzen. Die Pyriferrerizkurve provoziert aber eine erhebliche Leukocytose. Das Knochenmark ist also auch bei dieser Belastung von insgesamt 1 400 mg pro Tier noch voll reaktionsfähig. Eine Leukocytendepression im peripheren Blut tritt in Abbildung 10a und besonders in Abbildung 10b stärker hervor. Während der Versuche wurden täglich jedem Tier 25 mg/kg SP-G gegeben, so daß schließlich pro Ratte eine Menge von 175 mg/kg entfiel. Die weißen Blutkörperchen sinken in Abbildung 10 a während der 7 Tage undulierend um 5 000 Zellen ab. Unter der Pyriferberlastung ist zwar die Mobilisation der Leukocyten nicht eingeschränkt, der Anstieg liegt aber mit 3 000 Zellen unter der Norm. Eindeutiger demonstriert der Wiederholungsversuch mit einer Dosis von 25 mg/kg SP-G in Abbildung 10 b die depressive Wirkung auf das Knochenmark. Neben dem progressiven Sinken der Leukocyten dominieren in der Versuchswoche die zunehmende Kachexie und schließlich der Tod von zwei Probanden. Der Pyriferreiz trifft ein völlig refraktäres Knochenmark. Es kommt zu keiner Leukocytenausschwemmung. Die Leukopoese ist in diesem

Fälle wenigstens vorübergehend blockiert.

Bei noch höheren Dosen, wie 40 mg/kg und 50 mg/kg SP-G täglich, verenden alle Tiere bis zum 6. oder 7. Tag. Eine Knochenmarksfunktionsprüfung konnte bei diesen Versuchen nicht mehr durchgeführt werden (Tabelle 10c und Tabelle 10d). Diese toxischen Mengen von SP-G wirken aber auch vorwiegend auf den Magen-Darm-Trakt. Im Vordergrund stehen hier erhebliche Diarrhöen und die Kachexie, während sich noch bis zum Schluß die Leukocyten im peripheren Blut relativ konstant halten. Aber dennoch darf bei diesem Verlauf die Wirkung auf die Leukopoese nicht unbeachtet bleiben. Man kann in Anbetracht der ausgeprägten Regulationsstarre bei dieser Belastung von täglich 25 mg/kg Sp-G auch hier mit einem refraktären Verlauf der Pyriferkurve rechnen.

Für die Wochenkurven mit SP-G ergibt sich nun zusammengefaßt, bis zu einer Dosis von täglich 20 mg/kg keine hemmende Wirkung auf die Leukopoese. Dieses entspricht in der Praxis einer Menge von 1 400 mg/die während einer Woche. Als über der therapeutischen Grenze liegend, muß eine Gabe von 25 mg/kg, das entspricht beim Patienten 1 750 mg/die, angesehen werden. Hier kommt es außer den Störungen im Magen-Darm-Trakt und einzelnen Todesfällen zu einem ausgeprägten depressiven Einfluß auf das Knochenmark. Die Pyriferkurve verläuft völlig refraktär. Die Leukopoese ist bei dieser Belastung gestört. Bei einer weiteren Steigerung der Mengen von SP-G, z.B. auf 40 mg/kg = 2 800 mg/die beim Menschen - oder auf 50 mg/kg, das sind 3 500 mg/die in der Therapie, überwiegen die toxischen Wirkungen auf die Magen-Darmepithelien, so daß die Tiere an Diarrhoe, Inappetenz und Kachexie zugrunde gehen, bevor eine Knochenmarksprüfung durchgeführt werden kann.

Aus den Versuchen der Gruppe I C läßt sich eine große Toleranz des Knochenmarks auf die Gabe von hohen Dosen des Podophyllinderivates erkennen. Bis über die therapeutische Dosis hinaus, das sind auf die Klinik bezogen 1 000 mg/die, wird keine Einschränkung der Leukopoese während einer Versuchsdauer von einer Woche beobachtet. Es erhebt sich nun die Frage, kann man schon aus diesen Versuchen auf die

Dauerbelastung von vielen Wochen schließen ? Kurz gesagt, war nicht vielleicht die Zeit der Applikation und der Kontrolle zu gering ? Aus diesen Überlegungen werden in den Versuchsreihen der Gruppe I D zwei Tiergruppen während 9 Wochen täglich mit Dosen von 4,0 mg/kg bzw. 8,5 mg/kg SP-G, beide im therapeutischen Bereich gelegen, gefüttert. Tabelle 11 und Abbildung 11 bringen die Werte von 4,0 mg/kg, das sind 252 mg/kg insgesamt pro Tier. Für einen Menschen entspricht das rund 280 mg/die. Die peripheren Leukocyten zeigen in den ersten zwei Wochen eine steigende Tendenz von ca. 6 000 Zellen. Diese Leukocytose kann nicht anders als durch eine Infektion erklärt werden, die auch durch das makroskopische Bild bestätigt werden konnte. Das eitrignekrotische Ende der Schwanzspitze wurde bei Tier Nr.1 und Nr.4 nach der zweiten Woche entfernt, und die Leukocyten normalisierten sich sofort. Während der folgenden Wochen kam es aber wieder zu einem Anstieg der weißen Blutkörperchen, obwohl keine Eiterherde gesehen wurden. Eine antibiotische Therapie wurde wegen der eventuellen Auswirkung auf das Knochenmark unterlassen. So liegt also der leukocytäre Ausgangswert der Pyriferkurve um ca. 5 000 Zellen höher als der Wert am Versuchsbeginn. Trotz dieser Leukocytose reagiert das Knochenmark mit einer zwar schwachen ergotropen Phase von rund 1 500 Zellen. Dieser Versuch demonstriert gut die erschöpfte Mobilisierung der weißen Blutkörperchen nach einer langdauernden reaktiven Leukocytose. Darüber hinaus ist die geringe Wirkung des Cytostatikums SP-G gerade hier in diesem Versuch eindeutig erkennbar. Völlig anders liegen die Verhältnisse bei der Untersuchungsreihe mit 8,5 mg/kg pro die. Das bedeuten in der Therapie beim Menschen ca. 600 mg/kg, also eine Dosis, die sich innerhalb der therapeutischen Grenzen bewegt. Da in Abbildung 12 die hohe Leukocytenzahl des Tieres Nr. 5 den Durchschnittswert verfälscht, wird nur von den restlichen 4 Probanden der Mittelwert errechnet. Auch bei diesen Untersuchungen kommt es in der ersten Woche zu einem kräftigen Leukocytenanstieg, der sich aber bis zur 2. Woche wieder normalisiert. In den folgenden Wochen beweisen die weißen Blutkörperchen aber eine lineare Senkung. Die Ratten leiden in dieser Zeit auch

fortlaufend an Diarrhoe, und unter dem Zeichen der erheblichsten Kachexie verendet in der 4. Woche Tier Nr.4, nachdem die Leukocyten um die Hälfte gefallen sind. Diese Tendenz verstärkt sich noch wesentlich nach der 5. Woche, der schließlich in der 6. Woche ein weiteres Tier erliegt. Der Allgemeinzustand der restlichen 3 Probanden ist zu dieser Zeit mit Diarrhoe, Gewichtsverlust und Kachexie sehr schlecht. Trotzdem überstehen sie diese Krise ohne therapeutischen Schutz, und trotz unverminderter Gabe des Cytostatikums erholen sie sich zusehends. Die Leukocyten steigen auch in den letzten drei Wochen weiterhin leicht an, ohne jedoch leukocytotische Werte zu erreichen. Eine infektiöse Genese dieser Leukocytenbewegung kann schon aus dem guten Befinden der Tiere ausgeschlossen werden. Eine ähnliche Beobachtung mit vorübergehender Leukopenie und Kachexie in der ersten Zeit der Behandlung und eine anschließende Erholung der weiter betreuten Patienten wird auch von DEUCHER¹⁵ beschrieben. Am Ende der 9. Woche liegen die Leukozyten leicht über dem Ausgangswert. Das periphere Blutbild ist anscheinend während der Behandlungszeit nicht beeinflusst worden. Um so überraschender ist das Ergebnis des Pyriferreizes nach der Versuchszeit von vollen 9 Wochen. Trotz der normalen peripheren Leukocytenzahl erweist sich das Knochenmark nicht mehr fähig, mit einer Leukocytenauschwemmung den unspezifischen Reiz zu beantworten. Es tritt schon in der zweiten Stunde eine starke Leukopenie auf, die sich in den weiteren Stunden noch deutlicher entwickelt. In der 8. Stunde liegen die Werte um durchschnittlich 4 000 Zellen weit unter dem Ausgangswert. Ähnliche asymptotische Verlaufsbilder der Pyriferkurven werden von KRATTSCH, SCHMERMUND⁵⁶, EHRHARDT und FISCHER²⁰ bei Versuchen mit verschiedenen zytostatischen Substanzen erwähnt. DROSTE²¹ und Mitarbeiter prägen für diese charakteristische Kurve den Ausdruck der Regulationsstarre des Knochenmarks. Bei den in der Literatur beschriebenen Fällen und auch bei diesem letzten Versuch handelt es sich um eine vorübergehende Störung der Leukopoese, bedingt durch den Angriff der Cytostatika auf die proliferierenden Gewebe. Das Erstaunliche an diesem Versuchsgebiet ist aber, daß die Wirkung auf das leukopoetische System nicht aus der peripheren Leukocytenzahl

in diesem Falle zu erkennen ist. Unter diesem Aspekt müssen die optimistischen Stimmen von STAMM⁷⁵, HUBACHER⁴⁷, EMMENEGGER^{24,25} und WEDER⁸⁹, die nur aus dem peripheren Blutbild die Wirkung von SP-G auf das Knochenmark beurteilen, kritisch betrachtet werden. Das Resultat dieser Versuchsgruppe rechtfertigt vielmehr die warnende Haltung von MOESCHLIN⁶³ vor der ausschließlichen peripheren Leukocytenkontrolle. Es besteht oft eine erhebliche Diskrepanz zwischen dem peripheren Status und der zentralen Knochenmarksfunktion, die mit einer einfachen Leukocytenkontrolle nicht erfaßt werden kann. Weiterhin zeigt der Versuch, daß eine therapeutische Dosis von 8,5 mg/kg SP-G während 63 Tagen gegeben, zu einer effektiven Störung des hämopoetischen Systems führen kann. Auch hier seien auf die Berichte MOESCHLINs hingewiesen. Er beschreibt zwei Todesfälle an Panmyelophthisen nach unkontrollierter Abgabe der erwähnten Cytostatika, SP-I und SP-G. Wenn sich auch in vorhergehenden Versuchen eine beachtliche Toleranz des Knochenmarks auf hohe Dosen von SP-G zeigen ließ, so muß doch immer an die Möglichkeit einer unvermuteten Panmyelophthise gedacht werden, und das besonders, wenn nur die Leukocytenzahl im peripheren Blut als Ausdruck der leukopoetischen Funktion angesehen wird.

Stoßweise, einmalige Gaben von SP-I bzw. SP-G werden in Gruppe II durchgeführt. Hierzu dienen insgesamt 81 Ratten, davon entfallen 42 Tiere auf SP-I-Stöße und 39 auf SP-G-Stöße. Diese stoßweise Belastung mit den Cytostatika hilft die Frage klären, ob und bei welcher Dosis eine toxische Wirkung auf das Knochenmark durch diese einmalige Zufuhr eintritt. Weiterhin ist nach Unterschieden in der Wirkung von SP-I und SP-G zu suchen. In der Serie A prüft man das Cytostatikum SP-I. Getestet werden Dosen von 5,7 mg/kg bis 200 mg/kg SP-I i.v. Die Ergebnisse sind in Tabelle und Abbildung 13 bis 20 zusammengestellt. Die Belastungen mit 5,7 mg/kg, 11,4 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg SP-I zeigen im Prinzip dieselben Pyriferkurven, wie die Abbildung 13 bis 16 demonstrieren. Bis zur zweiten Stunde reicht eine deutliche vagotone Schockphase. Hierbei macht nur Abbildung 13 mit

5,7 mg/kg insofern eine Ausnahme, als es nach einem starken Leukocytensturz in den ersten 24 Stunden unter der Pyriferrreizung schon in der 2. Stunde zu einer kräftigen Leukocytose kommt. Dieses Verhalten wird durch die Wildersche Ausgangsregel erklärt. Nach diesem anfänglichen Leukocytensturz setzt bei allen Versuchsgruppen die ergotrope Phase ein. Es imponiert hier eine Leukocytose, die mit 4 - 7 000 Zellen über den Ausgangswert der Pyriferkurve hinausragt. Die vagotone Endphase beschließt diesen Verlauf. Kurz gesagt, bis zu einer Dosis von 50 mg/kg SP-I zeigen sich nach 24 Stunden noch alle drei Phasen der normalen Pyriferrreizkurve mit einer Leukocytose von 4 - 7 000 Zellen. Die Knochenmarksfunktion ist bei diesen Mengen in keiner Weise beeinträchtigt worden. Es sei noch auf die Leukocytose während der ersten 24 Stunden nach der Zufuhr des Cytostatikums hingewiesen. Ein Vergleich mit der Tabelle 1 und 3 schließt eine unspezifische Reaktion auf die Dekubationsverletzungen aus. Somit liegt der Gedanke nahe, wie ja schon bei den Wochenkurven angedeutet wurde, daß es in den ersten 24 Stunden nach der Belastung mit dem Cytostatikum aus der Podophyllinreihe zu einer anfänglichen Leukocytose kommt. Die vier folgenden Abbildungen 17 bis 20 sind die Ergebnisse der Belastung mit hohen Dosen SP-I. Nach einer Gabe von 80 mg/kg SP-I sind immerhin noch die typischen Phasen der Leukocytenbewegung bei der vegetativen Gesamtumschaltung erkennbar. Die Leukocytenausschwemmung zur 4. Stunde erreicht aber nur einen Zuwachs von 2 400 Zellen und liegt damit deutlich unterhalb des normalen Bereiches. Noch stärker offenbart sich die abgeschwächte Mobilisationskraft in den nächsten Versuchen. Auch mit 100 mg/kg SP-I sieht man eine in ihrem Wesen unveränderte Pyriferrbelastungskurve. Das Ausschwemmungsmaximum erreicht aber nicht mehr den Ausgangspunkt, sondern liegt in Abbildung 18 mit 2 400 Zellen unter dem Nullwert der Pyriferkurve. Zwar steigen die Zahlen der weißen Blutkörperchen um 4 000 Zellen in den ersten 24 Stunden, aber dieses erklärt nicht die anschließende Leukopenie als eine reaktive Erschöpfung. Denn in Abbildung 16 z.B. ist eine ähnliche Leukocytose nach der Belastung mit nur 50 mg/kg SP-I zu verzeichnen, und der Pyriferrreiz bringt

trotzdem einen Leukocytenzuwachs von 5 000 Zellen zustande. Deswegen ist es berechtigt, bei einer Dosis von 100 mg/kg von einer toxischen Wirkung zu sprechen. Ein Versuch mit einer Menge von 150 mg/kg SP-I in Abbildung 19 a liefert insofern ein neues Bild, als hier die Pyriferkurve völlig refraktär verläuft. 24 Stunden nach der Injektion liegt auch hier der Durchschnittswert um 3 000 Leukocyten höher als am Vortage. Der Pyriferkurve fehlt aber jede charakteristische Leukocytenbewegung. Das Knochenmark befindet sich also im Zustand der Regulationsstarre. Ein ähnliches Bild der dysregulativen Leukopenie entsteht bei einem Stoß von 200 mg/kg SP-I. In Abbildung 20 springt außerdem die hohe Leukocytose nach der Verabreichung des Mittels ins Auge. Diese Zellvermehrung kann vielleicht bei dieser extremen Dosis auf eine Injektionsnekrose zurückgehen. Es bleibt auf jeden Fall eine verminderte Leukocytenausschwemmung, die ohne Zweifel auf die hohe Dosis zurückgeführt werden kann. Zusammengefaßt kann über die SP-I-Stöße folgendes ausgesagt werden. Bei einer Dosis von 80 mg/kg, das sind 5 600 mg in der Klinik, erscheint eine abgeschwächte, aber in ihrem Charakter unbeeinflusste Leukocytenmobilisation, während bei einer Dosis von 100 mg/kg SP-I, dem entsprechen 7 000 mg als Stoß in der Praxis, keine Leukocytenenerhebung über den Ausgangswert auftritt. Das Maximum liegt sogar mit 2 400 Leukocyten unter dem Null-Wert. Völlig refraktär wird die Pyriferkurve bei einem Stoß von 150 mg/kg, also 10 500 mg in der Therapie. Als toxische Dosis muß die Menge von 100 mg/kg oder 7 000 mg beim Menschen angesehen werden.

In Serie B werden 8 Versuchsgruppen steigende Mengen SP-G peroral von 2,85 mg/kg bis zu 100 mg/kg als einmaliger Stoß zugeführt. Auch hier soll die Verträglichkeitsgrenze dieses Präparates auf die Leukocytenbewegung ermittelt werden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 21 bis 28 festgehalten. Im Prinzip ähneln die Kurvenbilder bis zu 50 mg/kg als Stoß sehr stark den entsprechenden SP-I-Stößen. Die Versuche mit 2,85 mg/kg; 5,7 mg/kg; 10 mg/kg; 25 mg/kg; 40 mg/kg und 50 mg/kg weisen sich durch dieselben Pyriferreizkurven aus und sollen deswegen gemeinsam besprochen werden. Bis zu einer Gabe von 50 mg/kg SP-G einschließlich sieht man die charakteristische Leukocytenbewegung der vegetativen Gesamtumschal-

tung. Nach einer angedeuteten Schockphase mit einer schwachen Leukopenie beherrscht in der 4. Stunde die ergotrope Phase das Bild durch einen Leukocytenzuwachs von 4 000 bis 9 000 Zellen über den Null-Wert hinaus. Man kann demnach bis zu einer Grenze von 50 mg/kg keine hemmende Wirkung auf das Knochenmark und besonders auf die Leukopoese nachweisen. Das Verhalten der peripheren Leukocytenbewegung ändert sich aber schlagartig bei der nächst höheren Versuchsmenge von 75 mg/kg SP-G. Hier wird eine Leukocytenmobilisation vollkommen vermißt. Aus Abbildung 27 geht klar der refraktäre Verlauf der Reizkurve hervor. Bei dieser Dosis von 75 mg/kg, der 5 250 mg in der Klinik entsprechen, bleibt die störende Wirkung auf die Leukopoese nicht aus. Mit dieser Menge von 75 mg/kg ist die Toleranzgrenze überschritten. In diesem Bereich ist also mit erheblichen toxischen Einflüssen zu rechnen, also auch bei nur einmaliger Zufuhr. Eine weitere Steigerung der Dosen auf 100 mg/kg SP-G bringt keine neuen Gesichtspunkte. Die Knochenmarksfunktion ist in diesem Versuch ebenfalls wenigstens zeitweilig geschädigt. Auffallend ist auch bei diesen peroralen Belastungen der Leukocytenanstieg während der 24-stündigen Pause nach der Zufuhr von SP-G. Da hierbei Injektionsnekrosen ausgeschlossen werden können, und der Einfluß der Blutentnahme schon wiederholt als wirkungslos bewiesen wurde, kann auf eine vorübergehende, aber ausgeprägte Leukocytose im peripheren Blut durch die Zufuhr von SP-I und SP-G bedingt, gefolgert werden.

Es muß noch auf die Frage der Wirkungsunterschiede zwischen SP-I und SP-G auf das hämopoetische System eingegangen werden. Im Qualitativen gleichen sich die Einflüsse sehr genau. Bei beiden Arten des Podophyllinderivates ist die toxische Dosis durch die gestörte Leukocytenmobilisation gekennzeichnet. Ist die therapeutische Grenze überschritten, so bleibt das Knochenmark für einen unspezifischen Pyriferreiz völlig unempfindlich. Es fehlt die ergotrope Phase; man spricht von einer Regulationsstarre. Die Differenzen der beiden Präparate bestehen vielmehr im Quantitativen, in der Frage, welches Mittel wirkt eher und stärker toxisch auf das Knochenmark. Die folgenden zwei Tabellen sollen diese Unterschiede verdeutlichen. Für die einzelnen SP-I- bzw. SP-G-Stöße

werden die numerischen Differenzen zwischen dem Null-Punkt der Pyriferkurve und dem Maximalwert der ergotropen Phase aufgeschrieben und verglichen.

Stöße von SP-I

Dosis in mg/kg	Leukocyten-Differenz zwischen O-Punkt und Maximum
5,7 mg/kg	+ 7 000 Zellen
11,4 mg/kg	+ 5 000 Zellen
25,0 mg/kg	+ 4 500 Zellen
50 mg/kg	+ 5 000 Zellen
80 mg/kg	+ 2 400 Zellen
100 mg/kg	- 2 400 Zellen
150 mg/kg	- 2 600 Zellen
200 mg/kg	- 4 600 Zellen

Stöße von SP-G

Dosis in mg/kg	Leukocyten-Differenz zwischen O-Punkt und Maximum
2,85 mg/kg	+ 6 000 Zellen
5,7 mg/kg	+ 7 000 Zellen
10,0 mg/kg	+ 4 000 Zellen
25,0 mg/kg	+ 9 000 Zellen (Wildersche Aus- gangsregel)
40,0 mg/kg	+ 5 000 Zellen
50,0 mg/kg	+ 5 000 Zellen
75,0 mg/kg	- 2 000 Zellen
100,0 mg/kg	- 2 500 Zellen

Für einen Pyriferreiz von 2,5 E wurde anfangs die untere Grenze einer normalen Leukocytenausschwemmung mit einer Differenz von + 4 000 Zellen angegeben. Nach diesem Maßstab ist bei den SP-I-Stößen eine Dosis von 80 mg/kg schon im Bereich einer gewissen gestörten Leukocytenmobilisation. Als sicher toxisch muß eine Gabe von 100 mg/kg SP-I angesehen werden. Für die SP-I-Stöße gibt die obere Tabelle einen idealen graduellen Übergang von der therapeutischen in die toxische Dosis an. Die Versuche mit der peroralen Zufuhr von SP-G demonstrieren einen viel abrupteren Wechsel von

therapeutischen in toxische Mengen. Während nach einer Gabe von 50 mg/kg SP-G noch eine völlig normale Pyriferkurve entsteht, verläuft schon die Kurve der nächst höheren Dosis von 75 mg/kg ohne Leukocytenausschwemmung. Es herrscht hier also schon eine vollkommene Hemmung der Knochenmarksfunktion vor. Dieses Ergebnis besagt zweierlei. Zunächst wird die stärkere toxische Wirkung des Mittels SP-G auf die Leukopoese offenbar. Schon bei 75 mg/kg wirkt SP-G sicher toxisch; demhingegen liegt diese Grenze für SP-I erst bei 100 mg/kg. Auf die Leukopoese wirkt SP-G um das 1,3-fache stärker als die Injektionen von SP-I. Zum anderen bedeutet der schmale Pfad zwischen dem therapeutischen und dem toxischen Bereich eine Gefahr in der Therapie mit SP-G-Gaben, der möglicherweise die unerwarteten Todesfälle bei MOESCHLIN⁶³ erklärt.

Nun bleibt noch zum Schluß Vergleich zwischen den Wochenkurven und den Stößen von SP-G zu ziehen. Bei welcher Applikationsart wird vom Knochenmark summiert eine größere Menge vertragen? Die nachstehende Tabelle gibt einen Überblick über diese Frage.

Applikations- Dauer von SP-G	Untox.Gesamtmenge Dosis in mg/kg	Tox. Gesamtmenge Dosis in mg/kg
Stöße (einmalige Menge)	50 mg/kg	75 mg/kg
Wochenkurven 7 Tage	11,4 mg/kg x 7 = 79,8 mg/kg	25 mg/kg x 7 = 175 mg/kg
Dauerbelastung 63 Tage	4,0 mg/kg x 63 = 252 mg/kg	8,5 mg/kg x 63 = 535,5 mg/kg

Aus dieser Zusammenstellung erkennt man den großen Vorzug einer Dauerbehandlung mit SP-G. Während eine Menge von 175 mg/kg SP-G in einer Woche gegeben, die Leukocytenbewegung erheblich blockiert, kommt es bei einer Gesamtdosis von 252 mg/kg auf 9 Wochen verteilt, zu keinen störenden Einflüssen auf die Leukocytenbildung. Am stärksten tritt aber die hemmende Nebenwirkung auf die Leukopoese bei den einmaligen Belastungsstößen in den Vordergrund. Hier ist schon bei einer Dosis von 75 mg/kg die therapeutische Grenze

überschritten. Diese Ergebnisse zeigen klar eine nur geringe kumulierende, leukotoxische Wirkung der Podophyllinderivate an. In dieser Eigenschaft stehen sie eindeutig im Gegensatz zu den bisherigen Cytostatika. Es sei z.B. nur an die stark kumulierende Wirkung des Endoxans erinnert. DRUCKREY²², DENK, KARRER¹⁴ u.a. weisen nachdrücklich auf diesen Nachteil bei den alkylierenden Substanzen, namentlich bei Endoxan, hin. Deswegen schlagen MOESCHLIN und DRUCKREY für die bisherigen klassischen Cytostatika eine intermittierende, stoßweise Belastungstherapie vor. Die Unterschiede zwischen den Podophyllinderivaten SP-I und SP-G und diesen kanzerotoxischen Mitteln möchte ich auf die spezifischen biochemischen Angriffspunkte beziehen. Die Alkylantien greifen, wie eingangs ausführlich dargelegt wurde, in die DPN-Synthese ein und bieten somit eine große Angriffsfläche im Intermediärstoffwechsel. Die Podophyllinderivate SP-I und SP-G aber scheinen dem hingegen ganz gezielt die Hexokinase-Reaktion zu befallen. So ist es begründet, für die einen Präparate wegen der stark kumulierenden Wirkung eine intermittierende Stoßtherapie zu fordern, während sich die Podophyllinderivate als Dauermedikamente auszeichnen, wobei es aber auch hier durch unkontrollierte Applikation zu erheblichen Störungen, ja sogar zu tödlichen Zwischenfällen kommen kann.

Als letztes Problem ist noch die Frage der Reversibilität der Knochenmarksstörung, durch hohe Dosen von SP-I und SP-G bedingt, zu lösen. Bekanntlich beschreiben eine Reihe von Autoren, unter anderen DRUCKREY²², BROCK, HOHORST⁴, DENK¹⁴ und Mitarbeiter, eine gute Erholungsfähigkeit der durch Endoxan geschädigten Leukopoese. Um in dieser Richtung eine bindende Aussage geben zu können, bedient man sich der Versuchsergebnisse der Gruppe III. Zum Vergleich wurden zwei Gruppen mit hohen, aber noch im therapeutischen Bereich gelegenen Dosen von 40 mg/kg bzw. 50 mg/kg SP-G geprüft. Die Werte sind in Tabelle 29 und 30 und in den entsprechenden Abbildungen niedergelegt. Bei den Pyriferkurven nach der Zufuhr von SP-G fällt nur bei der Menge von 40 mg/kg in Abbildung 29 eine abgeschwächte Leukocytenbewegung auf. Der nächste Versuch mit 50 mg/kg demonstriert aber eine kräftige

Leukocytenmobilisation. Um so überraschender ist aber bei beiden Versuchen der Pyriferkurvenverlauf nach einer zweiten Belastung mit diesem unspezifischen Reizkörper 8 Tage später. Nicht nur in Abbildung 29b imponiert eine refraktäre Leukocytenbewegung, sondern eine Woche nach der idealen Reizkurve ist auch beim Versuch mit 50 mg/kg die Leukocytenausschwemmung abgeschwächt und liegt tief unter dem Ausgangswert. Wie ist dieses Phänomen zu deuten? Eine gestörte Leukopoese, durch das Cytostatikum verursacht, läßt sich aus dem zwar verringert, aber doch charakteristischen Verlauf der Kurve in Abbildung 30b ausschließen. Eine Erklärung für diese auffällige Erscheinung gibt MOESCHLIN⁶⁴ mit seinem Versuch über die Leukocytenreifungszeit, die er mit ca. 10 Tagen berechnet. Somit bietet sich folgende klärende Möglichkeit. Nach einer optimalen Beantwortung des unspezifischen Reizes sind die Leukocytenreserven im Knochenmark erschöpft. Erst nach der Reifungsfrist von ca. 10-14 Tagen reagiert das Knochenmark wieder mit einer normalen, maximalen Leukocytose. Diese Vermutung wird noch durch die Ergebnisse der folgenden Versuche bestätigt. In Abbildung 31 und 32 sind 75 mg/kg SP-G bzw. 100 mg/kg nach demselben Verfahren geprüft worden. Hier zeigen die Pyriferkurven 24 Stunden nach der Belastung die typischen Bilder des asymptotischen Verlaufs. Bei diesen Dosen ist die Knochenmarksfunktion toxisch geschädigt, und das leukopoetische System verhält sich unempfindlich auf den Pyriferreiz hin. Die Injektion von 2,5 E Pyrif 8 Tage später offenbart aber eine typische, wenn auch im absoluten Wert unter dem Ausgangswert gelegenes Kurvenbild mit einer angedeuteten ergotropen Phase. Das heißt, auch nach diesen toxischen Dosen reagiert eine Woche später das leukopoetische System normal, wenn auch das Ausschwemmungsmaximum wegen der langen Reifungszeit nicht das absolute Maß erreicht. Dieselben Verhältnisse wiederholen sich auch bei einer intravenösen Injektion von 150 mg/kg SP-I (Tabelle 33). Aus diesen Ergebnissen läßt sich im wesentlichen für die Präparate SP-I und SP-G eine gute Regenerationsfähigkeit begründen. Wenn man die Reifungsfrist von 10-14 Tagen nach MOESCHLIN⁶⁴ berücksichtigt, ist die Vermutung einer völligen Reversibilität der gestörten Knochenmarksfunktion auch für die Podophyllinderivate gerechtfertigt. Dieses Resultat

stimmt auch mit den Ergebnissen von HUBACHER⁴⁸ und EMMENEGGER²⁴ überein, die nach dem Absetzen dieser Cyto- statika eine rasche Erholung aller gestörten Funktionen sicherten.

III.

Z U S A M M E N F A S S U N G

In dieser Arbeit werden die Podophyllinabkömmlinge SP-I und SP-G auf ihre leukotoxischen Nebenwirkungen an Albinoratten geprüft. Die Versuche sind in drei Hauptgruppen eingeteilt. Bei den Wochenkurven prüft man fraktioniert steigende Dosen von SP-I und SP-G. Während man hier die Dauerbelastung mit diesen Medikamenten testet, verabreicht man bei den Stößen einmalig hohe Mengen von SP-I und SP-G. Schließlich wird in der letzten Gruppe die Regenerationsfähigkeit des durch diese Substanzen geschädigten Knochenmarks untersucht. Bei den SP-I-Wochenkurven können die Ergebnisse wegen der aufgetretenen Infektionen und Nekrosen nicht zur Leukocytenkontrolle herangezogen werden. Deswegen greift man auf die perorale Zufuhr zurück. Hier zeigt sich die toxische Grenze bei einer Dosis von 25 mg/kg SP-G täglich, zusammen also 175 mg/kg. Weiter wird eine etwas höhere Gesamtdosis von 252 mg/kg bei einer täglichen Gabe von 4,0 mg/kg SP-G während 9 Wochen gegeben. Dabei waren aber keine störenden Einflüsse auf die Leukopoese zu konstatieren. Während man bei der doppelt so hohen Dosis von 8,5 mg/kg SP-G, auf 63 Tage verteilt, im peripheren Blutbild noch normale Leukocytenwerte findet, offenbart die Pyrifibelastung eine stark gestörte Leukopoese. Bei den Stoßversuchen kann man neben der toxischen Schwelle auch noch die Wirkungsstärke der beiden Podophyllinpräparate vergleichen. Ein einmaliger Stoß von 75 mg/kg SP-G erweist sich schon als stark toxisch, während die SP-I-Belastung erst bei 100 mg/kg ein refraktäres Knochenmark demonstriert. Die Regenerationsversuche lassen eine sichtbare Erholung erkennen, wenn auch das Ausschwemmungsmaximum unter dem Normalbereich bleibt. Dieses Verhalten erklärt sich aus der langen Reifungszeit von 10-14 Tagen für das leukopoetische System. Es kristallisieren sich daher drei wesentliche Ergebnisse:

- 1) Von beiden Präparaten erweist sich das SP-G um das 1,3-fache stärker leukotoxisch als SP-I.
- 2) Scheinen diese neuen Cytostatika SP-I und SP-G eine vergleichsweise geringe kumulierende Wirkung auf die Leukopoese zu besitzen, als z.B. die alkylierende Substanz Endoxan. Es ist daher begründet, von Dauermedikamenten zu sprechen. Bei unkontrollierter Gabe ist aber unter Umständen mit Zwischenfällen und tödlichen Agranulocytosen zu rechnen.
- 3) Auch bei extrem hoher Belastung des Knochenmarks zeigt sich nach einer Woche wieder eine angedeutete Regenerationsfähigkeit des Knochenmarks.

IV.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1) Arnold, H., Bourseaux, F., Brock, N.: Neuartige Krebs-chemotherapeutika aus der Gruppe der N-Lost-Phosphamidester, Naturwissenschaften, 45, 64 (1958)
- 2) Bauer, K.H.: Das Krebsproblem. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 2.Aufl. (1963)
- 3) Barton, B.S.: Collections for an Essay towards A Materia Medica of the United States. Philadelphia (1798)
- 4) Brock, N., Hohorst, H.J.: Zur Frage der Knochenmarkschädigung durch cancerotoxische Substanzen. Klinische Wochenschrift 38, 69 (1960)
- 5) Borkenstein: Untersuchungen über die cytopoetische Funktion des Knochenmarks bei normalen peripheren Leukocytenzahlen. Wiener Med. Wochenschrift 102, 116 (1952)
- 6) Brookes, P., Lawley, P.D.: A Comparison of the Reaction of Mono- and Di-functional Alkylating Agents with Nucleic Acids in vitro and in vivo. Biochem. J., 78, 2 (1961)
- 7) Burk, D.: Über eine Begründung einer Chemotherapie des Krebses auf der Grundlage einer primären Hemmung der Glucose-phosphorylierung (Hexokinase-Reaktion) durch Beeinflussung von Substrat, Coenzym und Enzym. Klinische Wochenschrift 1102, Jg.35 (1957)
- 8) Burk, D., Woods, M.: On the Metabolism of the Cancer Cell. Fed. Proc. 14 (1955)
- 9) Burk, D., Weinhouse, S., Warburg, O.: On Respiratory impairment in Cancer Cells. Science, 124, 271 (1956)
- 10) Burk, D., Hunter, J., Woods, M.: Insulin-Sex.-Antagonism in Mouse Melanoma Glycolysis and Growth. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 1, 7 (1954)
- 11) Burk, D., Laszola, J., Stengle, J., Wight, K.: Metabolism and Human Leucemic Lymphoblasts and its Normalization by Methotrexate and 6-Mercaptopurine. Fed. Proc. 15 (1956)

- 12) Cutts, J.H., Beer, C.T., Noble, R.L.: Biological Properties of Vincalcalekoblastine, an Alkaloid in *Vinca rosea* Linn., in Reference to its Antitumor Action. *Cancer Res.* 20 (1960)
- 13) Denk, W., Karrer, K.: Chemotherapie als Versuch einer Rückfallverhütung bei Ca-Operationen. *Krebsarzt*, 14, 81 (1959)
- 14) Denk, W., Karrer, K., Wurnig, P.: Über Wert und Risiken einer postoperativen Chemotherapie maligner Tumoren. *Arzneimittelforschung*, 11, 233 (1961)
- 15) Deucher, F.: Karzinomtherapie und Prophylaxe mit SP-G 827 und SP-I 77 an der Aarauer Chirurg. Klinik. Symposium über Zytostatika; Spiez, Schweiz am 1. Febr. 1962
- 16) Domagk, G., Petersen, S., Gauss, W.: Ein Beitrag zur experimentellen Chemotherapie der Geschwülste. *Krebsforschung*, 52, S.617 (1954)
- 17) Domagk, G., Jüngling, L., Pütter, J.: Probleme der Chemotherapie der Tumoren. *Med. Grundlagenforschung*, 2, 552 (1959) Thieme-Verlag
- 18) Domagk, G.: Histologische Veränderungen an experimentellen und menschlichen Tumoren nach Darreichung von Zytostatika. *Dtsch. med. Wochenschrift*, 81, 801 (1956)
- 19) Domagk, G.: Experimentelle Untersuchungen zu einer wirksamen Operationsprophylaxe. *Krebsarzt*, 10/11, 437 (1959)
- 20) Domagk, G.: Entwicklung der Chemotherapie in den letzten 25 Jahren und Ausblick in die Zukunft. *Münch. med. Wochenschrift*, 100, 16 (1958)
- 21) Droste, R., Dorssewski, E., Koch, E.: Untersuchungen zur Frage der toxischen Blutschäden bei der Ratte durch hochdosierte cyklische N-Lost-Phosphamidester. *Ärztl. Forschung*, 13 I, 27 (1959)
- 22) Druckrey, H., Steinhoff, P., Nakayama, M., Preussmann, R., Auger, K.: Experimentelle Beiträge zum Dosis-Problem in der Krebstherapie und zur Wirkungsweise von Endoxan. *Dtsch. med. Wochenschrift*, 88, 651 und 715 (1963)

- 23) Druckrey, H., Bresciani, F., Schneider, H.: Atmung und Glycolyse der Rattenleber während der Behandlung mit 4-Dimethylaminoazobenzol. Zeitschrift für Naturforschung, 13b, 516 (1958)
- 24) Emmenegger, H., Stählin, H., Rutschmann, J., Renz, J., v.Wartburg, A.: Zur Chemie und Pharmakologie der Podophyllum-Glucoside und ihre Derivate. Arzneimittelforschung, 11, 327 (1961)
- 25) Emmenegger, H.: Zur Pharmakologie einiger gebräuchlicher Tumorstoffe. Praxis, 50 Nr.5 (1961)
- 26) Ehrhardt, H., Fischer, Th.: Knochenmarksfunktionsprüfung bei Patienten mit bösartigen Geschwülsten. Klinische Wochenschrift, 40, (1962)
- 27) Gerlich, N.: Gefahren der zytostatischen Therapie. Krebsforschung und Krebsbekämpfung Bd.III, 112 (1959)
- 28) Goldeck, A., Müller, E.F.: Die erythrotoxische Urethanwirkung bei den Laboratoriumsratten. Ärztliche Forschung, 4, Bd.I, 192 (1950)
- 29) Greenberg, R.G.: Role of Folic Acid Derivates in Purine Biosynthesis. Fed. Proc. 13, 745 (1954)
- 30) Grundmann, E., Kröger, H., Holzer, H.: Vergleichende histologische, cytophotometrische und biochemische Untersuchungen über die Wirkung von Endoxan auf das Jensen-Sarkom der Ratten. Klinische Wochenschrift, 38, 546 (1960)
- 31) Hartwell, J.L., Detty, W.E.: B-Peltatin, A New Compound of Podophyllin. J. Amer. chem. Soc. 70, 2833 (1948)
- 32) Hartwell, J.L., Detty, W.E.: Compounds of Podophyllin 8 III. Isolation of α - and B-Peltatin Structure studies. J. Amer. chem. Soc. 72, 246 (1950)
- 33) Hartwell, J.L.: α -Peltatin, A New Compounds isolated from Podophyllum peltatum. J. Amer. chem. Soc. 69, 2918 (1947)
- 34) Herzt, R., Lipsett, M.B., Moy, R.H.: Effect of Vincal-leukoblastine on Metastatic Choriocarcinoma and Related Trophoblastic Tumors in Women. Cancer Res. 20, Bd.II (1960)

- 35) Heilmeyer, L., Merk, R., Pirwitz, J.: Klinik und Pharmakologie des Urethans und anderer cytostatischer Stoffe. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1948)
- 36) Heilmeyer, J.: Funktionsprüfung der Leukopoese des Knochenmarks. Handbuch der Gesamten Hämatologie, Bd.II/2, 332, Verlag Urban und Schwarzenberg, Berlin-München (1960)
- 37) Hochstein, P.E., Burk, D.: On the Role of Insulin in Glycolysing Tumor Homogenates. Fed. Proc. 16, 160 (1957)
- 38) Hodes, M.E., Rohn, R.J., Bond, W.H.: Vincaleukoblastine-Preliminary Clinical Studies. Cancer Res. 20, Bd.II (1960)
- 39) Hoff, F.: Zur pathologischen Physiologie der weißen Blutkörperchen. Münch. med. Wochenschrift, 77, 124 (1930)
- 40) Hoff, F.: Klinische Physiologie und Pathologie. Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart, 6.Aufl., 300 (1962)
- 41) Hoff, F.: Unspezifische Abwehrvorgänge - Unspezifische Therapie. Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart (1957)
- 42) Holzer, H.: Enzymchemische Angriffspunkte einiger tumorwirksamer Chemotherapeutika. Medizinische, 576 (1956)
- 43) Holzer, H.: Zum Mechanismus der Wirkung von B 518 (Endoxan) auf das Jensen-Sarkom und zur Hemmung der Chemotherapie von Tumoren durch das Vitamin Nicotinsäureamid. Klinische Wochenschrift, 36, 677 (1958)
- 44) Holzer, H., Sedlmeyer, G., Kemnitz, A.: Zum Wirkungsmechanismus carcinostatischer Chemotherapeutika: Hemmung der Glycolyse durch Äthylenimin-Verbindungen. Biochemische Zeitschrift, 328, 163 (1956)
- 45) Holzer, H., Kröger, H.: Zum carcinostatischen Wirkungsmechanismus von Äthylenimin-Verbindungen. Biochemische Zeitschrift, 330, 579 (1958)
- 46) Hubacher, O.: Die Kombinationsbehandlung: Ultraharte Strahlung der Kobaltbombe und Zytostatika. Krebsarzt, 16, 369 (1961)

- 47) Hubacher, O.: Allgemeine Orientierung über Zytostatika, insbesondere über Podophyllinderivate. Symposium über Zytostatika in Spiez, Schweiz, 1. Feb. 1962
- 48) Hubacher, O.: Möglichkeiten und Grenzen zusätzlicher Beeinflussung maligner Tumoren durch Zytostatika, insbesondere durch Podophyllinderivate. Radiologische Klinik, 31 194 (1962)
- 49) Hunter, J.: Differential Effects of Temperature on the Growth of Certain Transplanted. Tumors in Strain DBA Mice. J. Nat. Cancer Inst., 16, 405 (1955)
- 50) Isler, H.: Quelques expériences de laboratoire sur la colchicine et la podophylline. Schwz. med. Wochenschrift, 80, 438 (1950)
- 51) Johnson, J.S., Wright, H.W.: Vincal leukoblastine and Leurosine. Cancer Res., 20, II (1960)
- 52) Kaplan, J.W.: Concytomata acuminata. New Orleans Med. Surg. J., 94, 388 (1942)
- 53) Kelly, M.G., Hartwell, J.L.: The biological Effects and the chemical Composition of Podophyllin. J. Nat. Cancer Inst., 14, 967 (1954)
- 54) Keller, H.M.: Die Antwort des normalen und pathologischen Knochenmarks auf apyrogene Dosen eines unspezifischen Reizstoffes. Verh. dtsch. Ges. inn. Med., 62, 546 (1956)
- 55) King, S., Sullivan, M.: The Similarity of the Effect of Podophyllin and Colchicine and Their Use in the Treatment of Condylomata acuminata. Science, 104, 244 (1946)
- 56) Kratsch, E., Schmermund, K.J.: Die Überwachung der Knochenmarksfunktion bei der cytostatischen Behandlung bösartiger Geschwülste. Med. Klinik, 54, 1238 (1959)
- 57) Krestow, M.: Über den Einfluß von Milzextirpation und Transplantation auf die Leukocytenbewegung. Inaug. Diss. Heidelberg (1960)
- 58) Kuschinsky, G.: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. Thieme-Verlag, Stuttgart, 251 (1964)
- 59) Larsson, L.G.: Basal-cell Carcinoms of the Skin. Treated by Lokal Podophyllin Applications. Acta radiolog., 34, 449 (1950)

- 60) Le Page, Henderson, J.F.: Biochemistry of Tumors.
Progr. exp. Tum. Res., 1, 440 (1960)
- 61) Leuthardt, F.: Lehrbuch der Physiologischen Chemie.
Walter de Gruyter, Berlin, 14. Aufl. (1959)
- 62) Maschhoff, W., Heinzel, W.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Urethan auf Phagocytose, Speicherung und Entzündung. Klinische Wochenschrift, 26, 397 (1948)
- 63) Moeschlin, S.: Exogen bedingte toxische Veränderungen des Knochenmarks. Schwz. med. Wochenschrift, 92, 1623 (1962)
- 64) Moeschlin, S.: Ausreifungszeit, Mitosedauer und täglicher Umsatz der granulierten Leukocyten.
Schwz. med. Wochenschrift, 76, 1051 (1946)
- 65) Nadkarni, M.V., Hartwell, J.L., Leiter, P.B.M.,
Leiter, J.: Compounds of Podophyllin XI. Isolation of Two New Compounds from Podophyllum peltatum.
J. Amer. chem. Soc., 75, 1308 (1953)
- 66) Podwyssotzki, V.: Pharmakologische Studien über Podophyllum peltatum. Arch. exp. Patholog. und Pharmakol. 13 (1880)
- 67) Pütter, J.: Einfluß verschiedener Cytostatika auf den Stoffwechsel des Ehrlich-Mäuse-Ascites-Carcinoms.
Verh. dtsch. Ges. Path. (1958), S.374
- 68) Renz, J., Rutschmann, J.: Über Säurehydrazide aus der Podophyllotoxinreihe. Hel. chim. Acta, 42, 890 (1959)
- 69) Roitt, J.M.: The Inhibition of Carbohydrate Metabolism in Tumor Cells by Ethylenimines. Biochem.J., 62, 300 (1956)
- 70) Santavy, F., Reichstein, T.: Die Isolierung neuer Stoffe aus den Samen der Herbstzeitlose: Colchicum autumnale. Substanzen der Herbstzeitlose und ihre Derivate. Hel. chim. Acta, 33, 1606 (1950)
- 71) Schmähl, D.: Entstehung, Wachstum und Chemotherapie maligner Tumoren. Editio Cantor, Aulendorf in Württemberg (1963)
- 72) Schmidt, G.G.: Zur Frage der Erniedrigung der DPN-Konzentration in Tumoren durch Zytostatika.
Klinische Wochenschrift, 37, 254 (1959)

- 73) Schulze, E.: Die Behandlung chronischer Leukämien mit Urethan. Dtsch. med. Wochenschrift, 72, 153 und 371 (1947)
- 74) Schöpf, D.: Materia Medica Americana. Potissimum Regni Vegetabilis. Erlangen (1787)
- 75) Stamm, O.: Zur Krebstherapie mit Podophyllinderivaten. Münch. med. Wochenschrift, 106, 41 (1964)
- 76) Stoll, A., v.Wartburg, A., Renz, J.: The Isolation of α -Peltatin-glucoside from the Rhizomes of Podophyllum peltatum. J.Amer. chem. Soc., 77, 1709 (1955)
- 77) Stoll, A., v.Wartburg, A., Angliker, E., Renz, J.: Glucosides from the Rhizomes of Podophyllum peltatum Linn. J. Amer. Soc., 76, 5004 u. 6413 (1954)
- 78) Streicher, H.F., Schmidt: Die Knochenmarksfunktionsprüfung unter besonderer Berücksichtigung der Milzextirpation. Klinische Wochenschrift, 40, 667 (1962)
- 79) Sullivan, B.J., Wechsler, H.J.: The cytological effects of Podophyllin. Science, 105, 433 (1947)
- 80) Waravdekar, V.S., Powers, O.H., Leiter, J.: Enzyme Changes Induced in Normal and Malignant Tissues with Chemical Agents VII. Effect on Hydrolytic and Synthetic Enzymes of Diphosphorpyridine Nucleotide in Sarkoma 37. J. Nat. Cancer Res., 17, 145 (1956)
- 81) Waravdekar, V.S., Paradis, A.D., Leiter, J.: Enzyme Changes Induced in Normal and Malignant Tissues with Chemical Agents IV Effect of α -Peltatin on Glucose Utilization by Sarkoma 37 and on the ATP-ase, Hexokinase, Aldolase, and Pyridine Nucleotide Level of Sarkoma 37. J. Nat. Cancer Res., 16, 31 (1955)
- 82) Warburg, O.: Krebsforschung. Naturwissenschaften, 41, 485 (1954)
- 83) Warburg, O.: Stoffwechsel der Tumoren. Springer-Verlag, Berlin (1926)
- 84) Warburg, O.: On the Origin of Cancer cells. Science, (Lancaster, Pa), 123, 309 (1956)
- 85) Warburg, O.: Über die Entstehung der Krebszelle. Naturwissenschaften, 42, 401 (1955)
- 86) Warburg, O., Gawenn, K., Geissler, A.W.: Über die Entstehung des Krebsstoffwechsels in den Geweben. Zeitschrift für Naturforschung, 13b, 61 (1958)

- 87) v.Wartburg, A.: Lignanglucoside aus Podophyllum peltatum
Linn. Hel.chim. Acta, 40, 1331 (1957)
- 88) Warwick, O.H., Darte, J.M.M., Brown, T.C.: Some biological Effects of VLB, an Alkaloid in Vinca rosea
Linn. in Patients with Malignant Disease.
Cancer Res., 20, II (1960)
- 89) Weder, A.: Klinische Demonstration. Schwz. med.
Wochenschrift, 88, 625 (1958)
- 90) Weinhouse, S.: Ad. Cancer Res., 3, 270 (1955)
- 91) Woods, M., Hunter, J., Burk, D.: Regulation of Glucose
Utilization in Tumors by a Stress-Modified Insulin:
Antiinsulin System. J.Nat.Cancer, Inst., 16, 351 (1955)
- 92) Woods, M.: The Influence of Succinate and 2,4-Dinitro-
phenol on the Respiratory Activity of Mouse Cancers
and Normal Tissues. J.Nat.Cancer Inst., 17, 615 (1956)
- 93) Woods, M., Hobly, G., Burk, D.: Synergistic Action
Between A Podophyllum Extract And Sex Steroids in
Tumor Necrotization and Glycolysis. Proc. Amer.
Assoc. Cancer Res., 2, 54 (1955)
- 94) Woods, M., Hunter, J., Burk, D.: A Model of Multiple
Chemotherapy: Synergistic Action of A Podophyllin
Derivate, 2,4 Dinitrophenol, and Oxygen.
Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 2, (1956)
- 95) Woods, M., Burk, D.: Differential metabolic and necro-
tising Responses of Tumors to Podophyllin and
Colchicine derivates. Fed. Proc. 16, (1957)
- 96) Woods, M., Hochstein, P., Burk, D.: Insulin-reversible,
stressinduced Inhibition of cellfree Glycolysis in
S 91 Mouse Melanoma homogenatis. Fed.Proc., 16 (1957)
- 97) Woods, M.: Effects of Insulin and Antiinsulin on
Melanoma and Brain Glycolysis in Relation to Sodium-
Potassium Balance. Fed. Proc. 16 (1957)
- 98) Yoshida: Klinische Demonstration. Schwz. med. Wochen-
schrift, 88, II (1958)
- 99) Zach, J., Gerbert, E.: Untersuchungen über die Leuko-
cytenregulation bei Erkrankungen des hämopoetischen
Systems. Klinische Wochenschrift, 34, 749 (1956)

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich nicht versäumen, den Herren zu danken, die mir die Möglichkeit gaben, meine Dissertation auszuführen. Ich bin dem Direktor der Chirurgischen Klinik der Marburger Universität, Herrn Professor Dr. med. M. Schwaiger, zu tiefem Dank verpflichtet, der mir die Arbeit in seinem Institut ermöglichte. An dieser Stelle möchte ich gleichzeitig meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. med. H. J. Streicher herzlich danken für die Ratschläge, Hinweise und Anregungen, die er mir während der Ausarbeitung der Dissertation gab.

L e b e n s l a u f

Als zweiter Sohn des Rechtsanwalts Dr. Wilhelm Ritter und dessen Ehefrau Helene, geb. Wenzel wurde ich am 16. 2. 1939 in Mainz am Rhein geboren. Im Frühjahr 1945 wurden wir von dort nach Gedern in Hessen evakuiert. Hier besuchte ich vom Herbst 1945 bis Ostern 1950 die Volksschule. Anschließend kam ich auf das Stolberg-Gymnasium in Gedern und blieb dort bis zur Mittleren Reife. Ab Ostern 1956 ging ich auf das Gymnasium in Nidda/Hessen. Dort wurde mir am 26.2.1959 das Zeugnis der Reife ausgehändigt.

Im Sommersemester 1959 ließ ich mich in die Philosophische Fakultät der Philipps-Universität Marburg einschreiben und belegte die Fächer Geschichte und Französisch. Ab Wintersemester 1959/60 wechselte ich zur Medizinischen Fakultät über. Hier bestand ich am 6. 8. 1962 das Physikum. Anschließend studierte ich ein Semester an der Medizinischen Fakultät in Wien. Ab Sommersemester 1963 setzte ich mein klinisches Studium an der hiesigen Philipps-Universität fort. Im Sommersemester 1965 meldete ich mich zum Medizinischen Staatsexamen, das ich am 14. Februar 1966 bestand.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren
Professoren und Dozenten:

1) in Marburg/Lahn

Beckmann, Behrend, Berendes, Braun-Falco, Brück,
Bücher, Buchholz, Dimroth, Dölle, Drawert, Exner,
Gedigk, Golenhofen, Grüter, Hamm, Hardewig,
Hartmann, Hensel, Hildebrandt, Hornung, Jacob,
Knauff, Lang, Linneweh, Löhr, Lübbers, Mahr,
Mann, Martini, Marx, Maurath, Mesnil de Rochemont
du, Niessing, Oksche, Overbeck, Petry, Petzoldt,
Poetschke, Rodeck, Rohen, Salfeld, Sauer, Schiff,
Schleyer, Schmid, Schmitz, Schölmerich, Schrappe,
Schwaiger, Seidel, Siegert, Siess, Spiegelberg,
Stender, Streicher, Vogt, Walcher, Würterle.

2) in Wien

Antoine, Braitenberg, Fellingner, Fuchsig, Langer,
Neuhold, Novotny, Obiditsch-Mayer, Pillat.



